

Röntgenkleinwinkelstreuung an den Außensegmenten der Sehstäbchen vom Rind

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Albert-Ludwigs-Universität
Freiburg im Breisgau

vorgelegt von
Siegfried Stange
aus Elbing / Westpreußen

Freiburg 1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545307_0016

Röntgenkleinwinkelstreuung an den Außensegmenten der Sehstäbchen vom Rind

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Albert-Ludwigs-Universität
Freiburg im Breisgau

vorgelegt von
Siegfried Stange
aus Elbing / Westpreußen

Freiburg 1977

Dekan: Prof. Dr. C. Rüchardt

Leiter der Arbeit: Prof. Dr. W. Kreutz

Referent: Prof. Dr. W. Kreutz

Koreferent: Prof. Dr. G. Wegner

Tag der Bekanntgabe des Prüfungsergebnisses:

20. Okt. 1977



Meinen Eltern

1900

G l i e d e r u n g

1.	Einleitung	1
2.	Beschreibung des Objektes	2
3.	Beugungstheorie in der Röntgenstrukturanalyse	7
3.1.	Übersicht und erste Folgerungen	7
3.2.	Formulierung der Beugungstheorie unter Berücksichtigung der Sechstäbchenstruktur	14
3.2.1.	Abwälzung der Gitteramplitude auf die Fourierkoeffizienten	18
3.2.2.1.	Die Gitteramplitude in gewohnter Form	22
3.2.2.2.	Diskussion des Gitterfaktors	23
3.3.	Sample-Theorem als Folgerung aus 3.2.1.	28
4.	Die Präparation	34
4.1.	Isolierung der Sechstäbchen	34
4.2.	Optimierung empfindlicher Parameter	38
4.3.1.	Isolierung der Vesikel	43
4.3.2.	Mathematische Beschreibung des kontinuierlichen Dichtegradienten	45
5.	Messung	47
5.1.	Die Apparaturen	47
5.2.	Überführung des Sedimentes in ein Streupräparat	49
5.3.	Die Registrierung der Stapelperiode in der Kratky-Kamera	53
6.	Trennung der Reflexe in der Kiessig-Kamera als Nachweis einer Flächenstruktur	55
7.	Bemerkungen über die durch Verwackelungen bedingte "Lorentzkorrektur"	63
8.	Auswertung der Stapelreflexe	74
8.1.	Das Prinzip der Auswertung	74
8.2.	Übergang zum realeren Fall	82
8.2.1.	Zusammenhang zwischen der Q-Funktion und dem sample-Theorem	85
8.3.	Die Auswertung des realeren Falles nach Welte und Hodapp	87
8.4.	Die Auswertung der Stapelreflexe	90

8.4.1.	Erste Auswertung	90
8.4.2.	Zweite Auswertung	95
9.	Diskussion der Elektronendichteverteilung	102
10.	Beugung an Helices und verwandten Objekten	104
10.1.	Die kontinuierliche Helix	104
10.2.	Die Fouriertransformierte einer geeignet gewichteten sin-Funktion	112
10.3.	Die Mehrfach-Helix	114
10.4.	Die Helix mit endlicher Fadendicke	115
10.5.	Die kontinuierliche Helix mit schwankender Elektronendichte	115
10.6.	Die diskrete Helix	117
11.	Zusammenfassung	122
12.	Mathematischer Anhang	124
13.	Literatur	130

1. Einleitung

In der vorliegenden Arbeit wird eine Röntgenstrukturanalyse der Rindersehstäbchen im Kleinwinkelbereich durchgeführt. Es gibt bereits eine Fülle von Strukturuntersuchungen auf diesem Gebiet.

Dies gilt für die Licht¹- und Elektronenmikroskopie²⁻⁴ und trifft auch für die von uns verwendete Methode zu⁵⁻¹⁰.

Wenn wir dennoch die Methode der Röntgenbeugung am Sehstäbchen - genauer an seinem Außensegment - anwenden, dann vor allem aus dem Grunde, weil neue Auswerteverfahren vorliegen. Das Phasenproblem ist meist so zu lösen versucht worden, daß aus Quellungsexperimenten hervorgegangenen Reflexen solche Vorzeichen zugewiesen werden, die die Elektronendichte für die gesamte Versuchsserie invariant lassen. Unsere Auswertung, von Hosemann¹¹ begründet und Q-Funktionsmethode genannt, geht davon aus, daß bei einzelnen, symmetrischen Gitterzellen die Phaseninformation auch im Strukturfaktor und nicht nur in der Strukturamplitude enthalten ist.

Das Problem reduziert sich darauf, die im Prinzip nicht verlorengegangene Phaseninformation im Strukturfaktor bei Anwesenheit eines Gitterfaktors für biologische 'Kristalle' freizulegen. Dabei wird besonderes Gewicht auf Abstandsschwankungen zwischen den Einzelmembranen eines Vesikels und zwischen den Vesikeln gelegt¹².

Neben den ursprünglich gesuchten Stapelreflexen finden wir Zusatzreflexe. Sie lassen sich durch Orientieren senkrecht zu den Stapelreflexen isolieren.

Deshalb ordnen wir sie einer Flächenstruktur zu. Eine Deutung soll unter anderem im Zusammenhang mit möglicherweise vorhandenen helicalen Strukturen versucht werden.

2. Beschreibung des Objektes

Die Sehstäbchen in den Augen der Wirbeltiere bilden zusammen mit den Zapfen fünf Schichten, aus denen die Netzhaut aufgebaut ist, und zwar in Richtung des fortschreitenden Lichtes die letzte.

Sowohl von ihrer äußeren Form her als auch ihrer Funktion werden nochmals zwei Teile unterschieden:

das Innensegment mit allen Eigenschaften und Bestandteilen einer üblichen Zelle wie z.B. Zellkern und Mitochondrien

und das Außensegment:

dieses Stäbchen enthält jenen Apparat, der zum Sehen befähigt; Licht wird absorbiert und triggert die Permeabilität der Außenmembran, wodurch Potentialänderungen entstehen, die als Signale dem Hirn zufließen¹³⁻¹⁵.

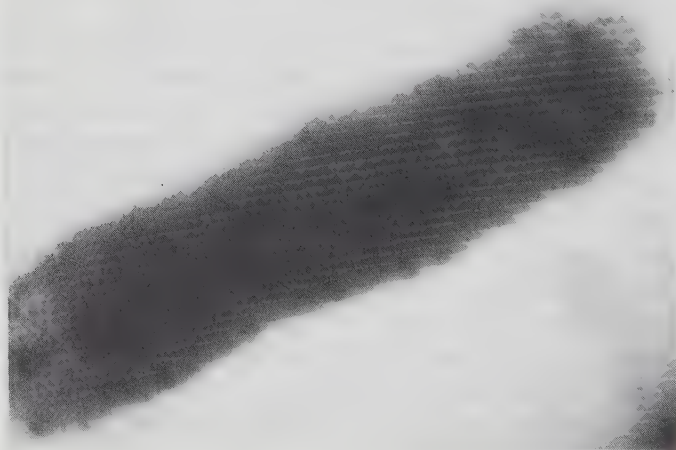


Abb. 1 Sehstäbchen PTA^{*}-fixiert
(Aufnahme Fritz, Goebel, Stange)

* PTA=Phosphorwolframsäure

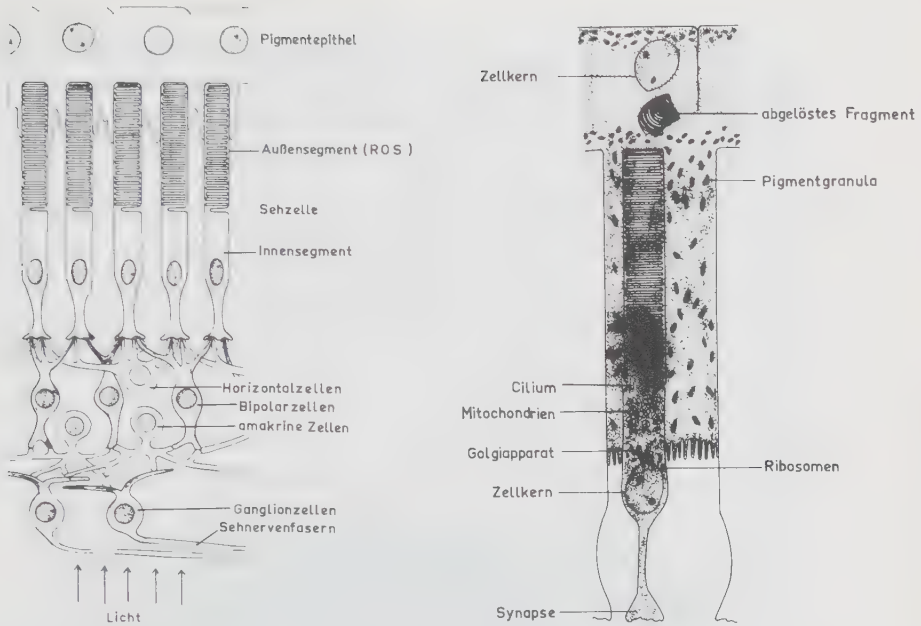


Abb. 2 Netzhaut und Stäbchen schematisch
(aus Scientific American ¹⁷)

Die Längen und Durchmesser der stäbchenförmigen Außensegmente schwanken zwischen $10\mu \times 1\mu$ bei Warmblütlern wie Rind und $50\mu \times 5\mu$ bei Kaltblütlern wie Frosch und erreichen im Molch Necturus mit 12μ Durchmesser Höchstwerte¹⁶. Für Funktionsmessungen¹⁴, bei denen Potentiale ableitende Elektroden an die Außensegmente herangeführt oder gar in sie hineingestochen werden, werden naturgemäß die größeren Exemplare der allerdings auch teureren Tiere bevorzugt. Wir hingegen wählen die im Lichtmikroskop noch gut zu erkennenden Sehstäbchenaußensegmente vom Rind. Rinderaugen gibt es gegen ein Trinkgeld in großen Mengen im ortsansässigen Schlachthof.

Zugleich nutzen wir, daß Rindernetzhäute keine Zapfen enthalten, so daß das Problem, Zapfen und Stäbchen in einer vermutlich nicht mehr schonenden Weise zu trennen, entfällt. Die Fläche, die eine einzelne Sehzelle belegt, entspricht in der Größenordnung der Ausdehnung der Lichtverteilung der nullten Beugungsordnung, die die Eintrittspupille des Auges in der Netzhaut erzeugt (s. mathem. Anhang 1.b).

Der feinere Aufbau der Sehstäbchenaußensegmente (engl. rod outer segments = : ROS) wird erst im Elektronenmikroskop sichtbar.

Eine Außenmembran umgibt einen Stapel geschlossener Vesikel, für die sich wegen ihres scheibchenförmigen Aussehens der Name "disc" eingebürgert hat. Ihre Anzahl schwankt zwischen

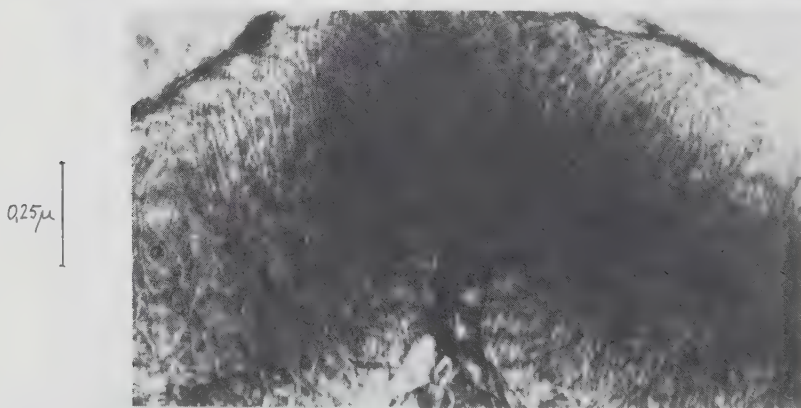


Abb. 3 | Discstapel PTA-fixiert
(Aufnahme Fritz, Goebel, Stange)

500 bei Warm- und 2000 bei Kaltblütlern. Der Abstand von disc zu disc beträgt $300 \text{ \AA}$.

Radioautographische Untersuchungen von Young¹⁷ mit markierten Aminosäuren haben gezeigt, daß die discs oberhalb der Verbindung zwischen Innen- u. Außensegment (dem Cilium) gebildet werden, gespeist mit einem Aminosäuretransport

vom Innen- zum Außensegment, wobei der ganze Stapel in Richtung Pigmentepithel geschoben wird, während die discs pakettweise vom Stäbchen abgeschnürt und im Pigmentepithel aufgelöst werden. Der ganze Stapel ist beim Frosch nach 8 Wochen erneuert.

An dieser Stelle sei vorwegnehmend betont, daß geschlossene Vesikel mit zwei gleichen Membranhälften die Symmetrie liefern, die eine wesentliche Voraussetzung für die in dieser Arbeit verwendete röntgenographische Strukturanalyse ist.

Ergebnisse mehrerer Autoren über die biochemische Zusammensetzung der Außensegmente, d.h. praktisch der discs, sind in einer Übersichtsarbeit von Daemen¹⁸ angegeben.

Eine disc-Hälfte ist mit ca 10^6 Molekülen Rhodopsin besetzt. Dieses Antennenmolekül Rhodopsin, dessen Absorption von Licht der Wellenlänge 498 nm (grün) den ersten Schritt des Schwarz-Weiß-Sehens darstellt, machte nach bisherigen Vorstellungen mit ca. 90% fast den gesamten Proteinanteil der disc-Membran aus. Neuere Untersuchungen¹⁹ haben ergeben, daß die disc-Membran drei fast gleich große Proteine enthält.

Das Rhodopsin ist bis heute eigentlich nur spektroskopisch klassifizierbar. Es wird fast ausschließlich mit Absorptionsmaxima seiner verschiedenen Zustände charakterisiert¹³. Dagegen wird als Molekulargewicht, dessen Angaben sich zwischen 28 000 und 40 000²⁰ bewegten, heute etwa 35 000 zitiert²¹.

Als Form für das Rhodopsin sind Kugeln²² mit $40\text{\AA}$ als auch Ellipsoide²⁰ mit den Mindestmaßen von $45\text{\AA}$ in zwei Richtungen und $75\text{\AA}$ in der dritten Richtung vorgeschlagen worden.

Gescheitert sind bisher die Versuche, Rhodopsin zu kristallisieren, um es den Methoden der klassischen Kristallographie zugänglich zu machen. Dagegen besitzt das Bakterium "Halobacterium halobium" die Eigenschaft²³, unter anearoben Bedingungen Bereiche dicht gepackten Rhodopsins wie in einem

2-dimensionalen Gitter zu bilden; röntgenographische Untersuchungen zeigen typische Helixreflexe²⁴, deren Auswertungen zu einem Modell geführt haben, bei denen 7 α -Helices einen Gitterplatz besetzen, wobei alle 7 Stränge gegeneinander leicht verkippt und gemeinsam senkrecht zur Membranebene orientiert sind.

Zur Lipidzusammensetzung der discs¹⁸ sei der bemerkenswerte Anteil ungesättigter Fettsäuren, insbesondere des PE 22/6, betont. Ungesättigte Lipide erhöhen den Flüssigkeitscharakter der Membran, der sich in einer hohen Beweglichkeit des Rhodopsins äußert^{25,26}.

Vielleicht benötigt der Sehvorgang zu seiner Funktionsweise eine hohe Mobilität der Lipidphase, welche mit Spin-Label-Technik²⁷ auch nachgewiesen worden ist, ebenso wie auch die Metarhodopsin I-II-Reaktion eine fluide Umgebung benötigt²⁸.

Wenn bloße Fluidität die einzige Eigenschaft wäre, die ungesättigte Lipide zu erfüllen hätten, könnten irgendwelche Lipide diese Aufgabe übernehmen. Jedoch wird ein hoher Aufwand seitens der Natur getrieben, um gerade eine bestimmte Lipidzusammensetzung unverändert zu erhalten.

Werden z.B. Ratten mit "falschen" Lipiden gefüttert²⁹, werden die "richtigen" der Netzhaut nach wie vor aus dem Körpervorrat zugeführt, und es treten eher Ernährungsstörungen auf, bevor die Lipidzusammensetzung der Netzhaut auch nur geringfügig geändert würde. Ebenso ist von hungernden Menschen nie berichtet worden, daß ihre Fähigkeit zu sehen abnehme.

Da das Außensegment vom Innensegment aus, wie oben (s. disc-Herstellung) erwähnt, mit Proteinen versorgt wird, darf zusätzlich wegen der Mitochondrien im Innensegment auf einen endlichen Partialdruck für Sauerstoff im Außensegment gefolgert werden; dies müßte aber zu einer Oxydation der ungesättigten Lipide führen, würden sie nicht gesondert davor geschützt werden. Dieser Schutz wird dem Oxydationshemmer Vitamin E zugeschrieben³⁰.

3. Beugungstheorie in der Röntgenstrukturanalyse

3.1 Übersicht und erste Folgerungen

Ausgangsgleichung im theoretischen Formalismus ist der Zusammenhang zwischen der Streuamplitude $A(b)$ und dem Streuobjekt $\rho(\mathbf{r})$. $A(b)$ ist bis auf Konstanten gleich der elektrischen Feldstärke der gestreuten Wellen.

Die Wechselwirkung zwischen elektromagnetischen Wellen und Materie, hier also zwischen Röntgenstrahlen und Elektronendichten, ist solcherart, daß die Streuanteile in Fraunhofer-scher Näherung als Fouriertransformierte des Streuobjektes darstellbar sind.

$$(3.1) \quad F(\mathbf{k}) = \int_{V_{\mathbf{r}}} \rho(\mathbf{r}) e^{-2\pi i \mathbf{r} \cdot \mathbf{k}} dV_{\mathbf{r}} \propto V_{\mathbf{r}}$$

$V_{\mathbf{r}}$: das Volumen, über das $\rho(\mathbf{r})$ verteilt ist
(weiterhin nur noch V genannt)

$\mathbf{k}$: die auf die Wellenlänge λ bezogene
Strahlensymmetrale $(\mathbf{s} - \mathbf{s}_0)/\lambda = \mathbf{k} - \mathbf{k}_0$

$\mathbf{s}$ = Richtung der gestreuten Wellen

$\mathbf{s}_0$ = Richtung der einfallenden Wellen

$\mathbf{k} - \mathbf{k}_0$ = Differenz der Wellenvektoren

Registrierbar mittels Film oder Zählrohr ist nicht $F(\mathbf{k})$ selbst, sondern das zugehörige Betragsquadrat, genannt Intensität $I(\mathbf{k})$.

$$(3.2) \quad I(\mathbf{k}) = F(\mathbf{k}) \cdot F^*(\mathbf{k}) = |F(\mathbf{k})|^2.$$

Wenngleich die Herleitung von Gl. (3.1), wie sie z.B. bei Laue³¹ nachgelesen werden kann, nicht ganz einfach ist, so läßt sich $F(\mathbf{k})$ einfach interpretieren: der Integrand ist gleich einer ebenen Welle mit der Phase $\varphi = 2\pi \mathbf{r} \cdot \mathbf{k}$ und der Häufigkeit $\rho(\mathbf{r})$; $F(\mathbf{k})$ ist die Überlagerung aller dergestalt gewichteten ebenen Wellen; die Phase wird dadurch er-

halten, daß der Gangunterschied zweier Wellen, $(\kappa, \theta - \theta_0)$, mit der Wellenlänge ebenso verglichen wird wie φ gegenüber 2π .

$$(3.3) \quad \varphi : 2\pi = (\kappa, \theta - \theta_0) : \lambda$$



Abb. 4 Phasen- und Wegdifferenz

Um einen Zusammenhang zwischen der Röntgenstreuung und der Teilchenstreuung herzustellen, sei noch angefügt, daß im Falle von z.B. Elektronen oder Neutronen bei Einhaltung der Fraunhofer'schen Beugungs-Bedingungen Gl. (3.1) übernommen werden könnte, wenn statt $\varphi(\kappa)$ ein geeignetes Wechselwirkungspotential $\phi(\kappa)$ eingesetzt würde, woraus dann aus (3.1) die 1. Born'sche Näherung entstünde.

Wir bemerken noch, daß die Interpretation von $F(\kappa)$ so naheliegend erscheint, daß sie häufig Ausgangspunkt einer "Herleitung" von (3.1) ist.

Losgelöst von einem Experiment stellt $F(\kappa)$ eine Fouriertransformation dar, die über den ganzen Raum verteilt ist; im Experiment jedoch sind κ Beschränkungen auferlegt, die aus allen Werten nur einen Teil zulassen.

Aus der Definition

$$(3.3a) \quad \kappa = (\theta - \theta_0) / \lambda$$

folgt: bei festem λ ,

also bei Verwendung monochromatischer Wellen, überstreicht κ von dem ganzen Raum nur eine Kugel, die sog. Ewald-Kugel.

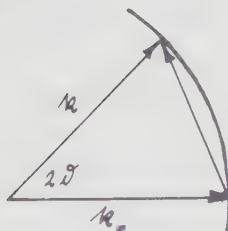


Abb. 5 Ewald-Kugel

Ihr Koordinatenursprung ist nicht ihr Mittelpunkt, sondern die Spitze von k_0 : der Ort des Primärstrahls ist der O-Punkt der Streuamplitude.

Da k als Bestandteil eines gleichschenkligen Dreiecks mit dem Öffnungswinkel 2ϑ (gleich dem Streuwinkel) die Länge $2 \sin \vartheta / \lambda$ hat, variiert $|k|$ nur in dem Intervall $[0, 2/\lambda]$.

Von der gesamten Fouriertransformation $F(k)$ ist bei monochromatischem Licht also höchstens der Anteil faßbar, der von der Ewald-Kugel herausgeschnitten wird. Dieser Bereich heißt Streuamplitude. Mit Rücksicht darauf, daß die Intensität wegen (2.) nur positiv oder 0 sein kann, können wir also drei Größen nach abnehmender Information unterscheiden:

1. die Fouriertransformation $F(k)$ mit vollständiger Information
2. die Streuamplitude $A(k)$ als Ausschnitt aus der Fouriertransformation
3. die Intensität $I(k)$ als Betragsquadrat der Streuamplitude.

Größere (kleinere) Bereiche des Fourierraumes können dadurch abgetastet werden, daß λ verkleinert (vergrößert) wird, andere, aber gleich große Bereiche dadurch, daß die Fouriertransformierte um den Ursprung gedreht und dergestalt durch die starre Ewald-Kugel hindurchgeschoben wird, was einem Verkippen im Ortsraum entspricht, oder, daß die Ewald-Kugel über

die starre Fouriertransformation streicht durch Ändern der Einfallrichtung ϕ_0 .

Ein paar weitere, später häufig verwendete Folgerungen sind ebenfalls aus Gl. (3.1) ablesbar:

ist die Funktion $\varrho(\mathcal{K})$ reell (komplexe Elektronendichten würden bei Berücksichtigung der von uns vernachlässigten Absorption eine Rolle spielen), wird aus $F(\mathcal{K})$ durch Vertauschen von $\mathcal{K}$ mit $-\mathcal{K}$

$$(3.1a) \quad F(-\mathcal{K}) = \int_V e^{+2\pi i \mathcal{K} \cdot \mathbf{r}} dV = F^*(\mathcal{K}),$$

mithin sein Konjugiertkomplexes.

In Worten entsteht so der Friedel'sche Satz: Über Inversionszentren verknüpfte Punkte im Fourier-Raum haben entgegengesetzte Phase.

Da eine komplexe Größe und ihre Konjugiertkomplexe gleiche Beträge haben, also

$$|F(\mathcal{K})| = |F^*(\mathcal{K})|$$

folgt: die Betragsquadrate der Fouriertransformierten ergeben eine zentrosymmetrische Funktion.

Ist $\varrho(\mathcal{K})$ symmetrisch, bleibt von Gl. (3.1) wegen

$$e^{i\varphi} = \cos \varphi + i \sin \varphi$$

nur die cos-Integration übrig, und $F(\mathcal{K})$ ist auch symmetrisch und reell, mit der bedeutenden Folgerung, daß als mögliche Phasenwerte in $F(\mathcal{K}) = |F(\mathcal{K})| \cdot e^{i\varphi}$ aus dem Kontinuum $\varphi \in [0, 2\pi]$ nur noch die beiden diskreten Werte $\varphi = 0$ oder π übrigbleiben; also beschränkt sich die Streuamplitude auf die beiden reellen Fälle $F(\mathcal{K}) = \pm |F(\mathcal{K})|$.

Bei antisymmetrischem $\varrho(\mathcal{K})$ bliebe nur die sin-Integration, und die Fouriertransformierte würde rein imaginär mit ebenfalls nur noch 2 Phasenwerten $\pm i = \pm e^{i\pi/2}$.

Zum Abschluß der vorläufigen Folgerungen aus (3.1) sei noch

das Reziprozitätsgesetz angeführt, welches in den Begriff Kleinwinkelstreuung mündet.

Koordinatenstreckungen im κ -Raum wirken als Stauchungen im k -Raum und umgekehrt.

Ersetzt man nämlich in (1) nacheinander mehrere $S_{\lambda}(\kappa) = S(\lambda \kappa)$, die auseinander durch Vergrößerungen hervorgehen, entstehen im gleichen Maßstab verkleinerte Beugungsfiguren:

$$\begin{aligned} (3.4) \quad F_{\lambda}(k) &= \int_V S_{\lambda}(\kappa) e^{-2\pi i \kappa \cdot k} dV \\ &= \int_V S(\lambda \kappa) e^{-2\pi i \kappa \cdot k} dV \end{aligned}$$

bei Einführung der neuen Variablen $\kappa \rightarrow \lambda \kappa$
wird daraus

$$\begin{aligned} F_{\lambda}(k) &= \int S(\lambda \kappa) \cdot e^{-2\pi i \kappa \cdot \lambda^{-1} k} dV_{\lambda \kappa} \cdot \lambda^3 \\ &= \int S(\kappa') \cdot e^{-2\pi i \kappa' \cdot \lambda^{-1} k} dV_{\kappa'} \cdot \lambda^3 \\ &= F(\lambda^{-1} k) \cdot \lambda^3 \end{aligned}$$

Demzufolge klingen Beugungsbilder großer Objekte eher ab als jene kleiner Objekte; dabei beziehen sich die Größenangaben auf die Wellenlänge der verwendeten Röntgenstrahlen; sie beträgt bei uns

$$\lambda(\text{Cu-K}\alpha) = 1.54 \text{ \AA}$$

Wird eine Intensität nur in unmittelbarer Umgebung des Primärstrahls gemessen, spricht man von Kleinwinkelstreuung oder -beugung.

Die von uns registrierten Intensitäten gehen nicht über einen Streuwinkel von $2\vartheta = 0.1$ rad hinaus.

Gemessen an den kleinen Werten, die $\frac{2 \sin \vartheta}{\lambda}$, der Betrag des

Streuvektors k , höchstens erreicht, ist $1/\lambda$, der Radius der Ewald-Kugel, sehr groß; folglich genügt es in der Kleinwinkelstreuung, von der Ewald-Kugel nur eine kleine Umgebung um den Primärstrahl zu betrachten, in welcher sich die Krümmung der Kugel kaum bemerkbar macht; wir dürfen die bequeme Annahme machen, daß die Fouriertransformation von einer Ebene geschnitten wird statt von einer gekrümmten Fläche.

Mit dieser Annahme wird die Frage leichter beantwortet, welche Elektronendichte im Ortsraum der oben definierten Strukturamplitude aus dem Fourierraum zuzuordnen ist oder, welcher Operation im Ortsraum ein Schnitt im Fourierraum entspricht.

Hierzu setzen wir in der Ausgangsgl. (3.1) für r und k jeweils rechtwinklige Koordinaten an:

$$r = (x, y, z), \quad k = (X, Y, Z)$$

$$(3.5) \quad F(X, Y, Z) = \int_V e^{-2\pi i(xX + yY + zZ)} S(x, y, z) dx dy dz$$

und bestimmen die Strukturamplitude in der Ebene $Y = 0$; nutzen wir aus, daß sich die Integration $\int dy S$ gesondert durchführen läßt, können wir schreiben

$$(3.6a) \quad F(X, 0, Z) = \int dx dz e^{-2\pi i(xX + zZ)} \cdot \int dy S(x, y, z)$$

Anschaulich ist $\int dy$ eine Projektion der Elektronendichte längs y , also senkrecht auf die x, z -Ebene.

Die Strukturamplitude, also die Fouriertransformation in der Ebene $Y = 0$, entspricht der y -Projektion der Elektronendichte.

Da diese Zusammenhänge sich noch häufig wiederholen werden, wollen wir sie nochmals, nur geringfügig allgemeiner zusammenfassen:

für zwei Größen, die durch eine Fouriertransformation miteinander verknüpft sind, gilt:

einem Schnitt durch den Ursprung in dem einen Raum entspricht eine Projektion senkrecht auf eine zur Schnittebene parallele

Ebene im reziproken Raum.

Bevor also beim Messen von Intensitäten durch "Phasenvernichtung" Information verloren geht, würde auch dann, wenn statt Intensitäten Strukturamplituden meßbar wären, die volle Information $\rho(x, y, z)$ solange nie voll zurückgewonnen werden können, wie der Streuvektor $\vec{K}$ nur einen Teil der Fouriertransformation $F(x, y, z)$ abzutasten vermag. Bei monochromatischem Licht ist $\vec{K}$ auf eine Ewald-Kugel eingeschränkt.

Da bei unserer Auswertung der belichtete Film längs einer Geraden densitometriert wird, soll das Verfahren des Schneidens mit einer Ebene bzw. des Projizierens auf eine Ebene zweimal angewandt werden, um die Information jener Elektronendichte zu bekommen, die im Fourier-Raum einer Geraden (= Schnitt zweier Ebenen) durch den Ursprung äquivalent ist: ist die Gerade die $\vec{Z}$ -Achse, wird aus (3.5)

$$(3.6b) \quad F(0, 0, z) = \int dz e^{-2\pi i z Z} \cdot \int dx dy \rho(x, y, z) \quad ;$$

den Werten längs der $\vec{Z}$ -Achse im Fourier-Raum entspricht die Projektion der Elektronendichte auf eine Gerade parallel zur z -Achse. Diese Projektion heiße in Zukunft einfach $\rho(z)$ bzw. $\rho_o(z)$.

3.2. Formulierung der Beugungstheorie unter Berücksichtigung der Stäbchenstruktur

Das elektronenmikroskopische Bild eines Blickes in ein Stäbchen, Abb. 3, zeigt einen Stapel von flachen Vesikeln; beschreiben wir den ganzen Stapel mit $\mathcal{S}(z)$, ein einzelnes Vesikel mit $\mathcal{S}_0(z)$, so abstrahieren wir vorläufig in erster Näherung $\mathcal{S}$ als periodische Wiederholung von $\mathcal{S}_0$; der mathematische Formalismus wird so geführt, daß die beiden Informationen:

1. es existiert ein $\mathcal{S}_0 = \mathcal{S}_0(x, y, z)$
2. es wiederholt sich der Baustein $\mathcal{S}_0$ periodisch

sowohl im Orts- als auch im Fourier-Raum ständig getrennt gehalten werden.

Wir sprechen von einem eindimensionalen Gitter oder Kristall $\mathcal{S}$; die zugehörige, anschließend genannte Mathematik ist so einfach, daß der strenge periodische Fall als idealer Fall bezeichnet wird; von ihm wollen auch wir ausgehen und den realeren Fall, in dem keine strenge Periode mehr vorliegt, später behandeln. Bei der Untersuchung des Auswerteverfahrens werden wir sehen, daß das Ziel, nämlich die Bestimmung der Funktion $\mathcal{S}_0(z)$, gerade dann unerreichbar ist, wenn die Bedingungen im üblichen Sinne ideal sind.

Zur Beschreibung eines Gitters benötigen wir eine Eigenschaft der δ -Funktion: sie reproduziert ein $\mathcal{S}_0(z)$ identisch, wenn $\mathcal{S}_0(z)$ mit $\delta(z)$ gefaltet wird; sie produziert $\mathcal{S}_0$ wie oben, aber um L verschoben, wenn $\mathcal{S}_0(z)$ mit $\delta(z-L)$ gefaltet wird:

$$\mathcal{S}_0(z) = \int \mathcal{S}_0(z') \delta(z-z') dz' = \widehat{\mathcal{S}_0} \delta(z)$$

$$\begin{aligned} \mathcal{S}_0(z-L) &= \int \mathcal{S}_0(z') \delta(z-L-z') dz' \\ &= \widehat{\mathcal{S}_0} \delta(z-L) \end{aligned}$$

Ferner gelten folgende Zeichen und Vereinbarungen:

$$(3.7) \quad S_o(z) = \begin{cases} S_o(z') & z \in [-L/2, +L/2] \\ 0 & z \notin [-L/2, +L/2] \end{cases}$$

$$(3.8) \quad H_o(b) = \mathcal{F} * S_o(z)$$

= Fouriertransformation von $S_o(z)$

= Strukturamplitude

$$(3.9) \quad g(z) = \begin{array}{l} |||_L \\ = \sum_{m=-N}^{+N} \delta(z - mL) \\ = \text{Folge von } \delta\text{-Funktionen im Abstände } L \\ = \text{Gitterfunktion} \end{array}$$

$$(3.10a) \quad G(b) = \begin{array}{l} \text{sinus } 1/L \\ = \sum_{m=-N}^{+N} e^{2\pi i m L b} \\ = \text{Fouriertransformation von } |||_L \\ \\ = \text{Überlagerung ebener Wellen der} \\ \text{Wellenzahlen } m \cdot 1/L \\ \\ = \text{Gitteramplitude} \end{array}$$

Für $N \rightarrow \infty$ folgt aus einer der Definitionen für die δ -Funktion (s. mathem. Anhang 2a):

$$(3.10b) \quad \lim_{N \rightarrow \infty} \text{sinus } 1/L = \sum_{m=-\infty}^{+\infty} e^{2\pi i m L b} = |||_{1/L}$$

also eine Folge von δ -Funktionen im Abstände $1/L$.

Dann ist der ganze Stapel g darstellbar als

$$(3.11a) \quad g(z) = \sum_m S_o(z - mL) = \sum_m \int dz' S_o(z') \delta(z - mL - z')$$

$$(3.11b) \quad g(z) = \overbrace{g_0}^{|||} L$$

Wenden wir auf (11a) den Verschiebungssatz bzw. auf (11b) den Faltungssatz an, erhalten wir für die Fouriertransformation von g mit den Vereinbarungen (3.8) und (3.10a)

$$(3.12a) \quad \mathcal{F} g = H(b) = H_0(b) \cdot \mathcal{M}_{1/L}$$

$$\text{entsprechend} \quad H^*(b) = H_0^*(b) \cdot \mathcal{M}_{1/L} \quad \text{also für die Intensität}$$

$$(3.12b) \quad I(b) = |H_0|^2 \cdot \mathcal{M}_{1/L}^2 = I_0 \cdot \mathcal{M}_{1/L}^2.$$

Die beiden Informationen, von denen I_0 den einzelnen Baustein und $\mathcal{M}_{1/L}^2$ das Gitter beschreibt, sind multiplikativ miteinander verknüpft. Die beiden Faktoren heißen

$$\begin{array}{ll} I_0 & \text{Strukturfaktor} \\ \mathcal{M}_{1/L}^2 & \text{Gitterfaktor} \end{array}$$

Die fehlenden Betragsstriche beim Gitterfaktor sollen auf die symmetrische Wahl der Gitterfunktion hinweisen.

Die Orte $b = n \cdot 1/L$ der Maxima heißen Bragg-Werte.

Erinnern wir uns daran, daß b gemäß (3a) die Werte $2 \sin \vartheta / \lambda$ durchläuft und setzen wir für b die ausgezeichneten Werte $n \cdot 1/L$ ein,

$$b = \frac{2 \sin \vartheta}{\lambda} = n \cdot 1/L \quad ,$$

so erhalten wir die bekannte Bragg'sche Gleichung

$$(3.13) \quad L 2 \sin \vartheta = n \cdot \lambda$$

aus der Lage der Maxima in der Fouriertransformation einer Folge von δ -Funktionen.

Zwischen den Maxima osziliert $\mathcal{M}^2$ um so näher um den Wert 0 (s. 3.2.2.2.), je mehr Glieder die Summe (3.10a)

enthält, also je häufiger sich ρ_0 periodisch wiederholt. Insgesamt sehen wir, daß der Gitterfaktor den Strukturfaktor an den Bragg-Werten erheblich verstärken kann, daß die Werte des Strukturfaktors außerhalb der Bragg-Werte um so stärker unterdrückt werden, je häufiger die nämliche Verstärkung ist.

Bei den unten verwendeten Auswerteverfahren wird statt der Funktion $\rho_0(z)$ ihre Fourier-Reihe verwendet.

Wir wollen daher die Strukturamplituden $F_0(l)$ und $H(l)$ durch die Fourierkoeffizienten C_v der Elektronendichte $\rho_0(z)$ beschreiben.

$$(3.14) \quad \rho_0(z) = \sum_v^{\pm\infty} C_v e^{2\pi i z v/L} \quad -L/2 < z < +L/2$$

$$(3.15) \quad C_v = \frac{1}{L} \int_{-L/2}^{+L/2} dz \rho_0(z) e^{-2\pi i z v/L}$$

$$(3.15') \quad C_v^* = C_{-v} \quad , \quad C_{-v} = C_v \Leftrightarrow \rho_0^*(z) = \rho_0(-z)$$

Für das um nL verschobene Muster ρ_0 gilt

$$(3.16) \quad \rho_0(z-nL) = \sum_v^{\pm\infty} C_v e^{2\pi i (z-nL) v/L}$$

$$(2m-1)L/2 < z < (2m+1)L/2$$

Die gesamte Elektronendichte $\rho(z)$ können wir aus einem Element ρ_0 in der Weise zusammensetzen, daß wir in der Summe (3.14) den Definitionsbereich von z über das Intervall $[-L/2, +L/2]$ hinaus erweitern oder in (3.16) über die Stücke nL summieren. Wir wählen zunächst den ersten Weg.

3.2.1. Abwälzung der Gitteramplitude auf die Fourierkoeffizienten

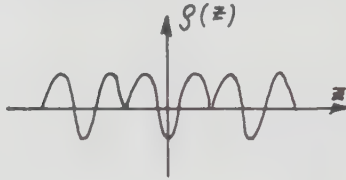


Abb. 6 $g(z)$ als periodische Fortsetzung von $g_0(z)$

Statt (3.14) schreiben wir dann für den Stapel

$$(3.17) \quad g(z) = \sum_v^{\pm\infty} c_v e^{2\pi i v z / L}$$

$$-m L/2 < z < +m L/2$$

bei gleicher Definition für c_v . m regelt, in dem es z.B. die Zahlen 1, 3, 5, ... durchläuft, wieviele g_0 das g zusammensetzen (wobei sich hier an das erste g_0 links und rechts gleich viele anschließen, um einer Überindizierung des Formalismus zu entgehen, was aber dem Grundsätzlichen keinen Abbruch tut).

Ebenso regelt m in den Integrationsgrenzen der Fouriertransformation

$$f = \int_{-m L/2}^{+m L/2} dz e^{-2\pi i b z} \dots$$

wieviele φ_0 zur Strukturamplitude $H(b)$ beitragen.
 $\mathcal{F}$, angewandt auf φ , liefert:

$$\begin{aligned} \mathcal{F} \varphi &= H(b) \\ &= \int_{-mL/2}^{+mL/2} dz e^{-2\pi i z b} \sum_v c_v e^{2\pi i z v/L} \\ &\quad z \in [-mL/2, +mL/2] \end{aligned}$$

$$= \sum_v c_v \int_{-mL/2}^{+mL/2} dz e^{-2\pi i z (b - v/L)}$$

$$(3.18) \quad = \sum_v c_v \frac{\sin m\pi L(b - v/L)}{\pi(b - v/L)}$$

Für $m = 1$ erhalten wir gerade

$$\begin{aligned} \mathcal{F} \varphi_0 &= H_0(b) \\ &= \sum_v c_v \int_{-L/2}^{+L/2} dz e^{-2\pi i z (b - v/L)} \end{aligned}$$

$$(3.19) \quad = \sum_v c_v \frac{\sin \pi L(b - v/L)}{\pi(b - v/L)}.$$

Für die Diskussion dieser Ausdrücke unterscheiden wir die beiden Fälle $m \rightarrow \infty$ und m endlich.

Für $m \rightarrow \infty$ stehen bei den Koeffizienten c_v in (3.18) gerade die Definitionen der δ -Funktion $\delta(b - v/L)$, (s. mathem. Anhang 2.), also $H(b) = \sum_v c_v \delta(b - v/L) = \sum_v c_v \delta(b + v/L)$, weil nur jeweils ein Summand zur Summe beiträgt.

D.h. außerhalb der ausgezeichneten Werte $\ell = v/L$ verschwindet die Strukturamplitude H , in den ausgezeichneten Werten $\ell = v/L$ nimmt die Strukturamplitude den Wert des v -ten Fourierkoeffizienten der Elementarzelle an, gewichtet mit der δ -Funktion (demnach ist die integrale Intensität gleich C_v).

Dies ist nichts anderes als das übliche Bild der Bragg'schen Reflexion: an bestimmten Reflexionswinkeln gibt es Intensität, außerhalb dieser Bragg'schen Winkel gibt es nichts, nur, daß das übliche Bragg'sche Reflexionsgesetz bloß sagt, wo es etwas gibt, während bei dieser Beschreibung auch gesagt wird, wieviel es gibt.

Im Falle eines endlichen m setzt sich ein beliebiger $H(\ell)$ -Wert gemäß (3.18) aus ∞ vielen C_v -Werten unterschiedlichen Gewichtes zusammen; indes an den Stellen $\ell = v/L$ wird $H(\ell)$ besonders einfach:

zur Durchführung der $\sum$ in (3.18) indizieren wir zunächst um.

$$H(v/L) = \sum_n^{+\infty} C_{v+n} \frac{\sin m\pi L (v/L - (v+n)/L)}{\pi (v/L - (v+n)/L)}$$

$$= \sum_n^{+\infty} C_{v+n} \cdot \frac{\sin m\pi n}{\pi n/L}$$

$$= mL \sum_n^{+\infty} C_{v+n} \cdot \frac{\sin m\pi n}{m\pi n}$$

$$(3.20) \quad = mL \cdot C_v$$

$$(3.20') \quad I(v/L) = m^2 L^2 \cdot |C_v|^2$$

Die Strukturamplitude an der Stelle $\ell = \nu/L$ ist proportional dem ν -ten Entwicklungskoeffizienten, verstärkt um die Anzahl m der beteiligten ρ_0 .

Für $m = 1$ wird aus (3.19)

$$(3.19') \quad H_0(\nu/L) = c_\nu \cdot L$$

Da m die Anzahl der beteiligten Bausteine regelt, steckt in ihm die früher in anderer Form dargestellte Gitteramplitude.

Gl. (3.19'), von rechts nach links gelesen, wonach dann der ν -te Entwicklungskoeffizient proportional ist der Fouriertransformation an der ν -ten reziproken Länge, also an der Stelle ν/L , ist nichts weiter als die Definition von c_ν gemäß Gl. (3.15).

3.2.2.1. Die Gitteramplitude in gewohnter Form

Den Gitterfaktor erhalten wir auch bei Verwendung der C_v in gewohnter Form $\mathcal{N}_{1/L}$, wenn wir von den beiden oben erwähnten Möglichkeiten nunmehr den zweiten Weg einschlagen, der seiner Kürze wegen noch angefügt werden soll, also Summation über die um jeweils L verschobenen ρ_0 :
es war gemäß Gl. (3.16)

$$\rho_0(z - nL) = \sum_n^{\pm\infty} C_v e^{2\pi i (z - nL) v/L}$$

$$(2n-1)L/2 < z < (2n+1)L/2$$

$$\rho = \sum_n^{\pm N} \rho_0(z - nL) = \sum_n^{\pm N} \sum_v^{\pm\infty} C_v e^{2\pi i (z - nL) v/L}$$

$$f_\rho = f \sum_n^{\pm N} \rho_0(z - nL)$$

$$= \int_{-\infty}^{+\infty} dz e^{-2\pi i z b} \sum_n^{\pm N} \sum_v^{\pm\infty} C_v e^{2\pi i (z - nL) v/L}$$

$$= \sum_n^{\pm N} \sum_v^{\pm\infty} C_v \int_{(2n-1)L/2}^{(2n+1)L/2} dz e^{-2\pi i z b} e^{2\pi i (z - nL) v/L}$$

Substitution $z \rightarrow z - nL$ liefert

$$f_\rho = \sum_n^{\pm N} e^{2\pi i b n L} \cdot \sum_v^{\pm\infty} \int_{-L/2}^{+L/2} dz e^{-2\pi i z (b - v/L)}$$

Die Summe $\sum_v$ ist lt. Gl. (3.19) gerade $\mathcal{H}_0(\cdot)$, also wird

$$f_\rho = \sum_n^{\pm N} e^{2\pi i b n L} \cdot \mathcal{H}_0(b) = \mathcal{N}_{1/L} \cdot \mathcal{H}_0(b)$$

in Übereinstimmung mit Gl. (3.12a).

3.2.2.2. Diskussion des Gitterfaktors

Wir schließen zunächst einige Erläuterungen zum Gitterfaktor bzw. zur Gitteramplitude an.

Hierzu gehen wir von der Gitterfunktion $g(z)$ aus, die wir in (3.9) bereits als Folge von δ -Funktionen im Abstände L beschrieben hatten. Ihre Realisierung durch

$$(3.9) \quad \sum_{n=-N}^{+N} \delta(z - nL)$$

ist daher bereits ein Spezialfall, wie ihn Abb. 7a für den Fall $N = 2$

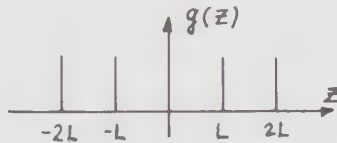


Abb. 7a

wiedergibt. In dieser Darstellung liegt also ein Gitterpunkt genau im Koordinatenursprung, $g(z)$ ist symmetrisch, in ihrer Fourier-Transformierten lassen sich zwei komplexe Paare

$e^{2\pi i n L b}$ und $e^{-2\pi i n L b}$ zu $2 \cos n L b$ zusammenfassen, sodaß schließlich die Gitteramplitude die einfache Form

$$(3.21a) \quad G(b) = 1 + 2 \sum_{n=1}^{N} \cos 2\pi n L b$$

annimmt, die immer dann erreicht werden kann, wenn die Anzahl der Gitterpunkte eine ungerade Anzahl annimmt.

Ist diese Anzahl jedoch gerade, z.B. 4, und strebt man wieder eine reelle Gitteramplitude an, würde man statt Abb. 7a die folgende Abb. 7b zugrundelegen

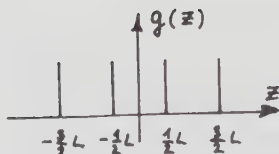


Abb. 7b

Die Gitterfunktion lautet in diesem Fall etwas umständlicher

$$(3.9') \quad g(z) = \sum_{n=1}^N \delta(z - (2n-1)L/2) + \sum_{n=1}^N \delta(z + (2n-1)L/2)$$

und die Gitteramplitude nach paarweisem Zusammenfassen der positiv bzw. negativ indizierten Glieder

$$(3.21b) \quad G(b) = 2 \sum_{n=1}^N \cos 2\pi b (2n-1)L/2$$

also wie a) unter Streichen der 1 und Ersetzen von

$$n \rightarrow (2n-1)/2.$$

Bei unserer ersten Definition der Gitterfunktion, Gl. (3.9), hatten wir willkürlich den Fall der Abb. 7a vorgelegt, hätten aber genauso gut Abb. 7b wählen können.

Um nicht jedesmal bei Vorgabe eines Spezialfalles darauf hinweisen zu müssen, daß der andere Spezialfall auch mitgemeint ist, kann man einer Darstellung den Vorzug geben, die im Gitterfaktor nur die beiden wesentlichen Eigenschaften der Gitterfunktion betont:

- die Anzahl der Gitterpunkte M
- und ihre gegenseitigen Abstände L .

Ausgenutzt wird dabei die Summenformel für die geometrische Reihe,

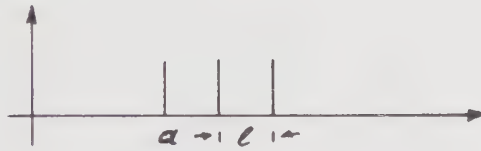


Abb. 7c

Liege der erste Gitterpunkt bei beliebiger Wahl des Koordinatenursprungs an der Stelle a , werden die übrigen Gitterpunkte durch Aneinanderreihen von L erreicht.

Eindimensional lautet dann die Gitterfunktion

$$(3.9'') \quad g(z) = \sum_{n=0}^{M-1} \delta(z-a-nL)$$

und ihre Fouriertransformierte

$$(3.21c) \quad \begin{aligned} G(b) &= \sum_{n=0}^{M-1} e^{2\pi i(a+nL)b} \\ &= e^{2\pi iab} \sum_{n=0}^{M-1} e^{2\pi inLb} \end{aligned}$$

Wir lesen drei Informationen ab: die Wahl des Koordinatenursprungs $-a$, gemessen vom ersten Gitterpunkt, die Anzahl M der Gitterpunkte und ihre gegenseitigen Abstände L .

Interpretieren wir $G(b)$ als eine geometrische Reihe, in der jeder folgende Summand aus seinem Vorhergehenden durch Multiplikation mit $q = e^{2\pi iLb}$ hervorgeht, können wir statt (3.21c) die Summenformel der geometrischen Reihe verwenden und erhalten

$$G(b) = e^{2\pi i a b} \frac{e^{2\pi i M L b} - 1}{e^{2\pi i L b} - 1}$$

und nach ein paar Umformungen

$$= e^{2\pi i a b} e^{i(M-1)Lb} \frac{\sin M\pi L b}{\sin \pi L b}$$

Daraus wird dann für den Gitterfaktor

$$(3.22) \quad |G(b)|^2 = \frac{\sin^2 M\pi L b}{\sin^2 \pi L b}$$

Die Information, wohin wir den Koordinatenursprung gelegt haben, ist also verschwunden, übrigbleiben die beiden wesentlichen Informationen M und L .

Wegen des Nenners, der Null werden kann, ist Gl. (3.22) für Computerrechnungen zwar unangenehm, aber ansonsten beim Bestimmen beliebiger $|G(b)|^2$ -Werte schneller als die Gleichungen (3.21a) und (3.21b), deren $| |^2$ -Bildung umständlich hinzuschreiben ist.

Die Maxima des Gitterfaktors liegen bei den Bragg-Werten

$$b = n \cdot 1/L$$

Zweimaliges Anwenden der Regel von de L'Hospital liefert das anschauliche Ergebnis

$$|G(n/L)|^2 = M^2$$

(Vergl.: (3.20') $\sim m^2$)

Zwischen zwei Bragg-Werten, also $b = L/2, 3 \cdot L/2, \dots$ ist der Nenner von (3.22) immer gleich 1, der Zähler dagegen nur für ungerades M ; bei geradem M liefern die Zwischenbraggwerte Nulldurchgänge.

Die übrigen Nulldurchgänge liegen bei den Vielfachen von $b = 1/ML$ (ausgenommen die gerade extra behandelten Vielfachen von $1/L$).

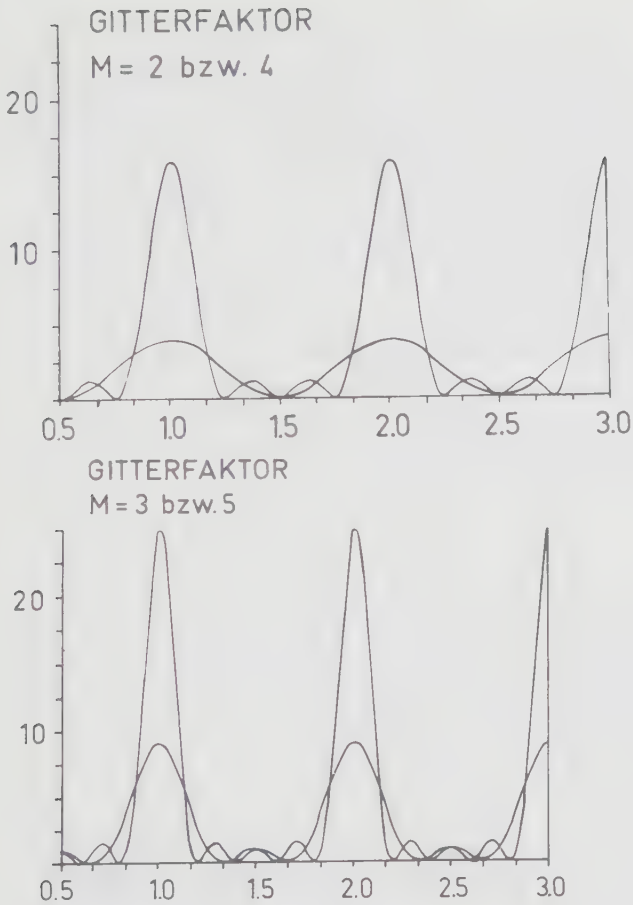


Abb. 8

Abb. 8 zeigt, wie heftig für wachsendes M der Gitterfaktor $|G(\ell)|^2$ außerhalb der Bragg-Werte gegenüber den ausgezeichneten Werten $\ell = n/L$ unterdrückt wird.

3.3. Sample-Theorem als Folgerung aus 3.2.1.

Die Gl. (3.19), die aus der Definition $\mathcal{F}_0(b) = \int \mathcal{S}_0(z)$ dadurch hervorgegangen war, daß für $\mathcal{S}_0$ ihre Fourierentwicklung eingesetzt wurde, läßt einen wichtigen Schluß zu, den wir später bei der Erläuterung des Auswerteverfahrens verwenden werden.

Hierzu betrachten wir zunächst den einfachen Fall der Fouriertransformation eines Kastens $\square_L$ der Länge L .

$$\square_L = \begin{cases} 1 & \text{für } |z| \leq L/2 \\ 0 & \text{sonst} \end{cases}$$

Seine Fouriertransformation lautet

$$\begin{aligned} \int \square_L &= \int_{-L/2}^{+L/2} 1 \cdot e^{-2\pi i z b} dz \\ (3.23) \quad &= \frac{\sin \pi L b}{\pi b} = L \frac{\sin \pi L b}{\pi L b} = L \frac{\sin s}{s} \end{aligned}$$

Vergleichen wir dieses einfache Ergebnis mit den in Gl. (3.19) bei c_v stehenden Gewichten, nämlich mit

$$(3.24) \quad \frac{\sin \pi L (b - v/L)}{\pi (b - v/L)}$$

so stellen jene Faktoren nichts anderes dar als die Fouriertransformationen eines Kastens der Höhe 1 und der Länge, wie sie der Ausdehnung eines $\mathcal{S}_0$ entspricht, nur mit dem Unterschied, daß sie gegenüber dem starren Gebilde Gl. (3.23) um v/L verschoben sind. Wir denken uns nun, wie es Abb. 9a zeigt,

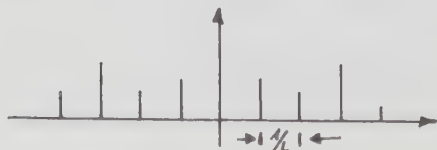


Abb. 9a
Spektrum der c_v

die C_v in ihren Einheiten $1/L$ der Reihe nach aufgetragen. Gemäß der multiplikativen Verknüpfung zwischen den C_v und der Funktion $L \sin s/s$ in Gl. (3.19), legen wir, wie es Abb. 9b zeigt, $L \sin s/s$ an einer Stelle b über das C_v -Spektrum, (da in (3.19) vor v/L ein Minus-Zeichen steht, hätte die Figur $L \sin s/s$ noch gespiegelt werden müssen, wegen ihrer Symmetrie entfällt aber dieser Vorgang).

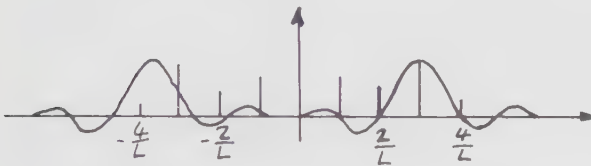


Abb. 9b
Faltung des C_v -
Spektrums mit
 $L \cdot \frac{\sin s}{s}$

Gl. (3.19) fordert, alle C_v -Werte mit den entsprechenden Werten der um b verschobenen Funktion $L \sin s/s$ zu multiplizieren und die Produkte zu addieren.

Eine solche Operation ist eine Faltung an der Stelle b .

Die Fouriertransformation des Kastens mit der Länge L hat lt.

Gl. (3.23) in den Abständen $\Delta b = 1/L$ ihre Nulldurchgänge.

Wird die Figur der Gl. (3.23) gerade um $b = v/L$ verschoben, trägt zur Faltung nur ein C_v bei und zwar gerade der nämliche an der Stelle v/L , womit wir die Aussage der Gl. (3.19') wiederholen.

Das Merkwürdige an Gleichung (3.19) ist, daß die kontinuierliche Funktion $H_0(b)$ aus der diskreten Folge der C_v gewonnen werden kann, indem jene mit der Fouriertransformation der Kastenfunktion gefaltet wird, wobei die Länge des Kastens der Ausdehnung von $\mathcal{F}^{-1} H_0$ gleich ist.

Dieser bemerkenswerte Zusammenhang, der sich bei uns auf ganz natürliche Weise ergeben hat, ist in der Informationstheorie unter dem Namen sample-Theorem (to sample = zusammenkehren), bekannt.

Wir hatten oben im Zusammenhang mit der Gl. (3.12a)

$$A(b) = \mathcal{M}_{1/L} \cdot A_0(b)$$

auf den multiplikativen Zusammenhang zwischen dem Gitterfaktor $\mathcal{M}_{1/L}^2$ und dem Strukturfaktor $I_0 = |A_0|^2$ hingewiesen. Aus der kontinuierlichen Funktion I_0 werden nur wenige Werte herausgeschnitten, die meisten dagegen unterdrückt, wenn sich $\mathcal{M}_{1/L}$ aus genügend vielen Wellen zusammensetzt.

Nun liegt der Gedanke nahe, mehr Werte von I_0 dadurch abzutasten, daß $\mathcal{M}_{1/L}^2$ die Orte ihrer Maxima variiert.

Dies wird in Quell- und Schrumpfsperimenten dadurch erreicht, daß in Gl. (11a) die gegenseitigen Abstände der $\varphi_0(z - nL)$ verändert werden, wobei das einzelne Muster φ_0 gleichbleiben muß.

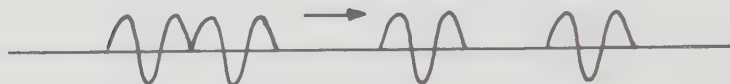


Abb. 10

Das Periodizitätsintervall verschiebt sich mit einem Parameter p von L nach pL ; während das einzelne Motiv φ_0 gleich bleibt, wird die Ausdehnung der Funktion φ_0 durch Anheften von Nullen erweitert. Dies äußert sich in der Reihenentwicklung für φ_0 dadurch, daß die Periode mit dem Parameter p behaftet wird, dagegen der Integrationsbereich, der sich nur über die Figur erstreckt, der alte bleibt.

$$(3.25a) \quad \varphi_0 = \sum_{\nu}^{\pm\infty} C_{\nu} e^{2\pi i z \nu / pL}$$

$$(3.25b) \quad C_v = \frac{1}{pL} \int_{-L/2}^{+L/2} dz \, \rho_0(z) e^{-2\pi i z v/pL}$$

Wir lesen ab, daß die Koeffizienten C_v in Gl. (3.25b) nur dann mit jenen von (3.15) bis auf $1/p$ übereinstimmen, wenn dies auch die Werte v/pL bzw. v/L tun.

Bringen wir eine Systematik in den Parameter p hinein derart, daß das Periodizitätsintervall nacheinander verdoppelt, verdreifacht, ... wird, daß also in der Abb. 6 so viele Figuren gestrichen werden, daß nur noch jede zweite, dritte, ... übrigbleibt, dann stimmen in den Koeffizientenschemata

(3.25b) bzw. (3.15) nur noch jedes zweite, dritte, ...

überein. War $1/L$ der Abstand der C_v in (3.15), so ist

$1/pL$ der Abstand der C_v in (3.25b). Durch Erhöhen von p werden immer mehr diskrete Werte C_v bzw. $\rho_0(n/pL)$ zwischen die alten C_v -Werte der Abb. 9a geschoben, bis für $p \rightarrow \infty$ die kontinuierliche Funktion $\rho_0(b)$ dargestellt wird. Diesen Grenzübergang vollziehen wir an den beiden letzten Gleichungen, indem wir ersetzen:

$$b_v = v/pL \quad \lim_{p \rightarrow \infty} b_v = b$$

$$\Delta b = b_{v+1} - b_v \quad \lim_{p \rightarrow \infty} \Delta b = db$$

$$\sum_v \rightarrow \int_{-\infty}^{+\infty}$$

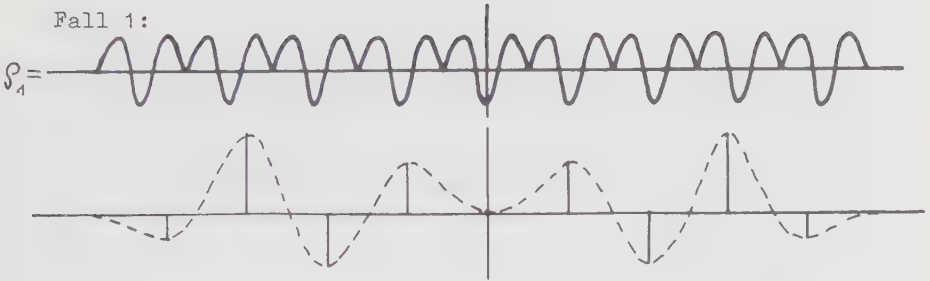
Dann wird zunächst aus Gl. (25b)

$$\begin{aligned} C_v &= \frac{1}{pL} \int_{-L/2}^{+L/2} dz \, e^{-2\pi i z b} \rho_0(z) \\ &= \frac{1}{p} \int_{-L/2}^{+L/2} dz \, e^{-2\pi i z b} \rho_0(z) \\ &= \frac{1}{p} \int_{-L/2}^{+L/2} dz \, e^{-2\pi i z b} \rho_0(z) \end{aligned}$$

Analoge Verhältnisse werden wir später auf die Intensität und ihre Fouriertransformierte übertragen können, wenn wir beide Größen mit dem sample-Theorem verknüpfen.

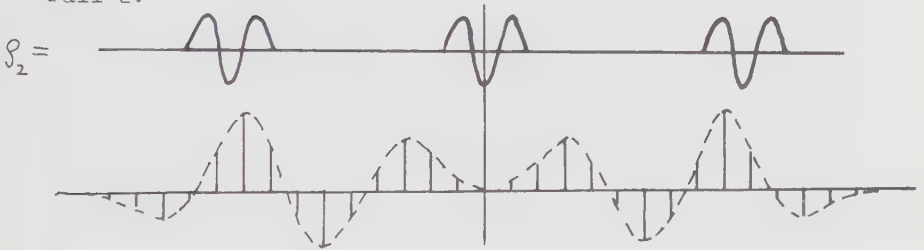
Die Zusammenhänge zwischen den Größen im Orts- und Fourier-raum wollen wir für den symmetrischen Fall $\mathcal{F}(z) = \mathcal{F}(-z)$, also $C_{-v} = C_v$, noch einmal grafisch zusammenfassen. Statt der Funktion $\text{sin}_{1/L}$ wählen wir dabei ihren Grenzfall $|||_{1/L}$.

Fall 1:



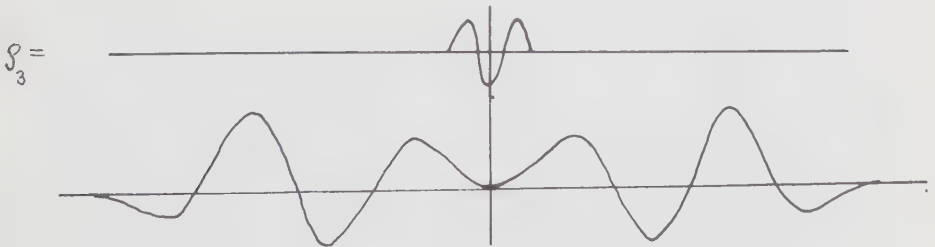
$f S_1$: diskrete Werte im Abstände $1/L$

Fall 2:



$f S_2$: diskrete Werte im Abstände $1/pL$

Fall 3a: $S_3 = S_0(z)$, also ein S_0 von Fall 1)



$f S_3$: kontinuierliche Fkt $H_0(b)$ = einhüllende der diskreten Spektren 1) u. 2) .

4. Die Präparation

4.1. Isolierung der Sebstäbchen

Für eine Präparation werden 15 - 20 Rinderaugen im Schlachthof gesammelt. Die Augen werden, etwa 1 Minute nach dem Töten herausgeschnitten, in einen schwarzen Beutel auf Eis gelegt. Im Labor bei mattem Rotlicht werden die Augen in der Mitte längs einer Ebene senkrecht zur optischen Achse aufgeschnitten. Zwei Entlastungsschnitte in die hintere Hälfte des Bulbus erleichtern sein Umstülpen, wonach der Glaskörper herausfällt. Die Netzhaut wird mit einer Pinzette in Richtung des optischen Nerves, des eigentlichen Fixpunktes der Netzhaut, möglichst frei von Epithel zusammengeschoben, abgehoben und in einem Mörser gebadet; er enthält pro Netzhaut 0,5 ml Salzlösung einer bestimmten, weiter unten angegebenen Komposition. Nach drucklosem Mörsern von einer Minute Dauer wird der Inhalt durch eine zweifach gefaltete Mullbinde gegossen, die die größten Anteile der Netzhaut zurückhält, und durch Nachspülen zusätzlicher 2 ml Salzlösung weiter verdünnt.

Diese Suspension, die im Lichtmikroskop Stäbchen, Erythrozyten und Zellkerne zeigt, wird mit einer Pipette auf eine in gleicher Salzlösung hergestellte Saccharoselösung der Dichte $1,14 \text{ g/cm}^3$ ($= 36,7 \text{ g/100 ml} = 932,7 \text{ mMol Saccharose}$) in einem Zentrifugenbecher geschichtet und anschließend mit 30.000 g 30 Minuten lang mit einem Swing-Rotor dichte-zentrifugiert³³.

Die Stäbchen konzentrieren sich an der Grenze Saccharose-Salzlösung. Im (streng vermiedenen, nur in Vorversuchen geduldeten) Tageslicht bilden sie eine zunächst rote Schicht, die nach wenigen Sekunden zum Gelb ausbleicht, ein Vorgang, der die Absorption von zunächst 498 nm und nach dem Ausbleichen jene von 380 nm widerspiegelt.

Im Sediment findet sich der vom stabilen Rot der Erythrozyten charakterisierte Rest. Mit einer Pasteurpipette werden die Sebstäbchen abgesaugt, in ein Zentrifugenröhrchen

mit der nämlichen Salzlösung getropft und durch Zugabe weiterer Salzlösung bezüglich mitgeführter Saccharose verdünnt. Während einer 20 minütigen Zentrifugation mit 3000 g entsteht das Sediment, das Ausgangsmaterial für die Röntgenbeugung ist.

Die Grafik der Abb. 12 gibt den Präparationsverlauf nochmals wieder.

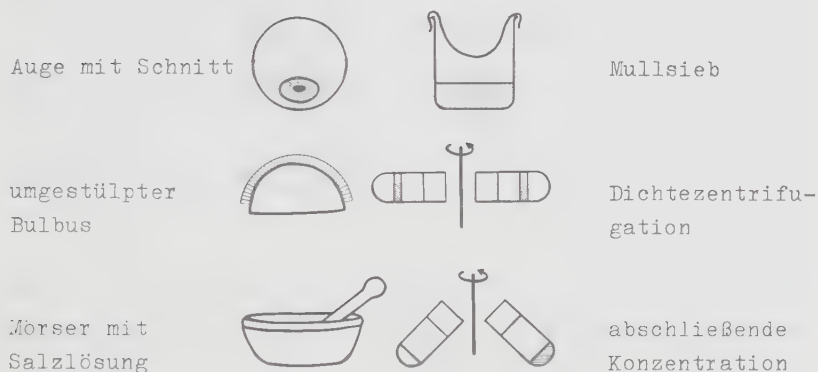


Abb. 12 Präparationsverlauf

Der eben geschilderte Präparationsvorgang ist bezüglich mehrerer Parameter variiert worden, um zwei Probleme optimal zu lösen:

die erste Aufgabe, eine Stäbchensuspension frei von anderen, die Röntgenbeugung verfälschenden Zellbestandteilen zu bekommen, wird von der Methode des diskreten Dichtegradienten vorzüglich erfüllt und ist jedesmal lichtmikroskopisch, häufig elektronenmikroskopisch und in Vorversuchen auch mit dem

weiter unten näher beschriebenen kontinuierlichen Dichtegradienten in Kombination mit den gerade genannten mikroskopischen Methoden überprüft worden.

Schwerwiegender ist die zweite Aufgabe, isolierte Sehstäbchen in einem Zustand, der dem in-vivo-Zustand nahekommt, während der vielstündigen bis mehrtägigen Belichtungszeit in der Röntgenapparatur unverändert zu erhalten. Den in-vivo-Zustand während der Präparation selbst einzuhalten, ist zweifach von vornherein ausgeschlossen:

zum einen existiert keine Lösung, sei sie physiologisch oder unphysiologisch, in der isolierte Stäbchen - vermutlich wegen ihrer instabilen Außenmembran - nicht von selbst zerfallen, zum anderen wegen des Dichtegradienten, die zwar zur hohen Reinheit führt, die Stäbchen aber hyperton schockt.

Die Stäbchen in der Trennschicht "sehen" die hohe Saccharosekonzentration von fast 1 Mol, die also um den Faktor 3 zu sehr hyperton ist. Isotonie liegt bei ca. 300 mOsmol vor.

Durch anschließendes Waschen in isotoner Lösung während des zweiten Zentrifugierens kann dieser Schock nicht mehr rückgängig gemacht werden.

Hier liegt offenbar eine Ursache darin, daß wir röntgenografisch um 30% niedrigere disc-disc-Abstände (s. Abschnitt 7.) messen bzw. daß die discs in Abb. 19 enger aufeinander gepackt sind als in Abb. 3 .

Hinzu kommt eventuell ein Anteil nichtmembrangebundener Proteine und andere Moleküle, die den disc-Membranen beim bloßen Aufnehmen der Stäbchen in eine Lösung per Diffusion verlorengehen.

Angesichts dieser mißlichen Umstände, uns vom in-vivo-Zustand sicherlich und dann noch irreversibel zu entfernen, haben wir das Präparationsziel dahin zu ändern versucht, den raschen Zerfall der Sehstäbchen, also die ständige Änderung ihres jeweiligen Zustandes, zu stoppen dergestalt, daß sie zwar bis zum Beginn der Röntgenaufnahme eine gewisse Änderung erleiden, von da an aber wenigstens "röntgenografisch"

stabil sind: eine Kurzzeitaufnahme sollte sich von einer Langzeitaufnahme möglichst nur um einen konstanten Faktor unterscheiden. (Als nur der 600 W-Generator mit fokussierendem Monochromator zur Verfügung stand, bedeuteten Kurzzeitaufnahme eine Belichtungszeit von knappen 2 Tagen und Langzeitaufnahme eine solche von reichlich 4 Tagen. Mit der Drehanode (statt Monochromator Ni-Filter) verkürzten sich die Belichtungszeiten auf 10 resp. 30 Stunden).

Wenn im Folgenden von Sehstäbchen gesprochen wird, dann sind also die gemeint, die durch eine bestimmte Präparation definiert sind.

Ihre Stabilität wird kontrolliert: röntgenografisch bezüglich der Gleichheit der Reflexe in äquidistanten Zeitabständen, lichtmikroskopisch hinsichtlich der äußeren Form mit einer Vergleichsprobe und elektronenmikroskopisch bezüglich der Güte des Stapels.

4.2. Optimierung empfindlicher Parameter

Folgende Parameter wurden variiert:

die Temperatur während der Präparation und während der Röntgenaufnahme, die Zusammensetzung der Salzlösung, ihr pH-Wert, die Art der Überführung des Sedimentes nach der abschließenden Zentrifugation in eine Probe für die Röntgenaufnahme und die Konservierung der Probe.

Die anfängliche Methode, im Kühlraum bei $2 - 4^{\circ} \text{C}$ zu präparieren, ist ebenso aufgegeben worden, wie die Kühlung des Präparates während der Röntgenaufnahme.

Zum einen konnten wir nicht in jeder Phase des Versuches die Bildung von Kondenswasser verhindern, welches die Isotonie erheblich stören kann, zum anderen bewirkten mehrfache Temperaturschwankungen, wie sie zwischen Schlachthof, Labor und Röntgenraum unvermeidlich sind, beschleunigter unkontrolliertes, irreversibles Zerfallen als gleichbleibende Wärme.

Von allen Kühlungen ist nur die erste im Schlachthof übriggeblieben, bei der die Augen auf Eis gelegt werden, um in den isolierten Augen den spontanen Abbau seitens der Lyso-somen zu verlangsamen.

Ausgangslösung für die Variation der Zusammensetzung war die Ringer-I-Lösung:

NaCl	9,0 g
KCl	0,4 g
CaCl ₂	0,25 g pro Liter.

Ihre vernichtende Wirkung auf isolierte Sehstäbchen ist im Licht eines Phasenkontrastmikroskopes eine Angelegenheit von wenigen Minuten: die Stäbchen knicken, brechen ab oder krümmen sich zu Ringflächen, wobei die ursprünglich glatte äußere Form schrumpelig wird.

Zugaben von Mg^{++} , welches aufgrund seiner Zweiwertigkeit vernetzend wirkt, vermögen in Bruchteilen von mMol den Zerfall zu verlangsamen. Zu erwähnen ist, daß nach unseren

Beobachtungen diese Eigenschaft vom ebenfalls zweiwertigen Ca^{++} allein nicht übernommen wird, daß ferner der Mg-Anteil nicht geringer sein sollte als jener von Ca und daß beide Anteile jeweils unter 0,5 mMol bleiben.

Beim Abhebern der Sechstäbchen vom Dichtegradienten wird zwar Saccharose mitabgesaugt, aber undosiert; um ihre konservierende Wirkung von Anfang an und kontrolliert zu nutzen, sind mindestens 5 mMol Saccharose Bestandteil unserer Salzlösung.

Größere Mengen bis zu 50 mMol lassen nach unseren Beobachtungen bezüglich der Stabilität keinen eindeutigen Befund zu.

Ebensowenig können wir einen Zusammenhang zwischen Stabilität und Na^+ -Konzentration herstellen, sogar Vertauschen von Na^+ und K^+ wirkt sich weder fördernd noch nachteilig auf den Erhalt der Sechstäbchen aus.

Dagegen ist das Einhalten eines pH-Wertes, den wir zwischen 5,6 und 8,5 variiert haben, von 7,1 bis 7,2 wichtig, wenn Stäbchen eine mehrtägige Belichtungsdauer in der Röntgenapparatur überdauern sollen.

Wir stellen mit den Phosphatsalzen NaH_2PO_4 und Na_2HPO_4 (je 1/15 Mol) im Verhältnis 7:3 einen pH-Wert von 7,17 ein.

Zusammengefaßt hat unsere Salzlösung folgende Zusammensetzung:

NaCl	120	mMol
KCl	2	mMol
CaCl_2	0.2	"
MgCl_2	0.2	"
Na_2HPO_4	11	"
NaH_2PO_4	4	"
Saccharose	5	"

Eine bis auf Osmolalität vergleichbare Zusammensetzung für den Frosch hat Sickel³⁴ auf Grund der Güte des elektrophysiologischen Retinogramms gefunden (s. auch¹⁴).

Die Phosphatsalze zum Einhalten des pH-Wertes u. Mg sind unbedingt erforderlich.

Saccharose kann zu höheren Werten variiert werden, während die Na- und K-Mengen unerheblich sind.

Über den Beitrag des Ca's zur Stabilität können wir keine Aussage machen. Die günstigste Osmolalität liegt zwischen 280 und 300 mOsmol.

Mit unterschiedlichen NaCl- und Saccharosemengen haben wir versucht, hypotone und hypertone Bereiche zu erreichen, um den Gitterfaktor $\frac{\lambda^2}{4L}$ zu verändern; Stäbchen in hypotonen (< 280 mOsmol) Lösungen haben die langen Belichtungszeiten nicht gleichbleibend durchgestanden; die Intensitätsreflexe ändern sich zu häufig bezüglich ihrer λ -Werte als auch ihrer Orientierung, weil das Präparat zu instabil ist.

Hyperton (> 300 mOsmol) aufbewahrte Stäbchen sind zwar zeitlich weniger empfindlich, zeigen aber in der Anfangsphase zu abrupte Änderungen und lassen keine genaue Festlegung des Beginns der Stabilitätsphase zu, in der eine Röntgenmessung durchgeführt werden konnte.

Ohnehin liegen die Bragg-Werte für die Stapelstreuung von 250 - 200 Å deutlich unter dem in-vivo-Wert von 300 Å. Insgesamt ist also der Versuch, durch Änderung der Osmolalität den Gitterfaktor über längere Zeit definiert zu schieben, gescheitert.

Drei Beobachtungen, von uns wiederholt gemacht, sollen noch angefügt werden.

1. Je geringer der prozentuale Anteil des mitgelieferten Cytoplasmas gegenüber der Salzlösung im Mörser ist, desto stabiler verhalten sich die Stäbchen. Die oben erwähnten 0.5 ml Salzlösung/Netzhaut stellen eine untere Grenze dar. Deutlich höhere Mengen Salzlösung werden durch die Kapazität der Zentrifugenröhrchen limitiert, sind aber erwünscht. Diese Beobachtung bedeutet wahrscheinlich, daß durch Verdün-

nen die Konzentration an Lysosomen verringert wird.

2. Die Angabe, die Netzhäute zu mörsern, mag widersprüchlich erscheinen angesichts der erwähnten Empfindlichkeit der Sehstäbchen. Auch wir haben versucht, die Netzhäute nur im Bad zu schütteln, um von ihnen die Stäbchen abzuspielen. Dabei ist die Ausbeute gering; dieser Ausfall ließe sich zwar durch mehr Netzhäute kompensieren, dies würde jedoch eine Verzögerung der Präparation bedeuten, bei der die schnelle und saubere Isolation der Sehstäbchen von anderen Zellen oder Zellbestandteilen offenbar entscheidend ist. Der eigentliche Grund, das Mörsern beizubehalten, ist überraschender. Die Stäbchen, die sich leicht abspülen lassen, sind instabiler als jene, die beim Baden in der Netzhaut haften bleiben. Außerdem sind die Rindersehstäbchen zu klein, als daß sie mechanisch zerstört würden. Wenn wir druckloses Mörsern für besser befunden haben gegenüber druckvollem, dann aus dem Grunde, weil dadurch wahrscheinlich zu hohe Strömungsgradienten vermieden werden, aber nicht wegen einer rein mechanischen Zerstörung. Bei den in dieser Arbeit nicht erläuterten Präparationen der fünfmal größeren Froschsehstäbchen ist Mörsern nicht geeignet: zuviele werden zerrissen.

3. Die Sehstäbchen vertragen kein zu heftiges Pipettieren. Beim Ansaugen oder Ausfließen sind daher nur geringe Strömungsgeschwindigkeiten zugelassen. Ausnützen werden wir diese Empfindlichkeit bei der später erläuterten Isolierung der discs aus den Sehstäbchen.

Bei aller Sorgfalt ist das hier geschilderte Verfahren dennoch keine Garantie dafür, über mehrere Tage stabile Stäbchen zu erhalten, aber zumindest die Tendenz kann erhöht werden, daß bei vielen Versuchen einige Röntgenaufnahmen gelingen.

Der schwächste Punkt der Präparation scheint uns der Dichtegradient zu sein wegen seines hypertonen Schocks.

Wir haben versucht, eine reine Stäbchensuspension ohne Dichtegradienten herzustellen, indem die unterschiedlichen Sinkgeschwindigkeiten der verschiedenen Zellen ausgenutzt werden. Auf die Salzlösung in einem hohen Reagenzglas, die durch Zugabe von Saccharose auch etwas hypertone sein kann, wurde das Filtrat der gemörserten Netzhäute geschichtet; nach wenigen Minuten hatten sich auf dem Boden mehr Erythrozyten und Zellkerne angehäuft als Sebstäbchen, in der Flüssigkeitssäule dagegen überwog die Anzahl der Sebstäbchen; mit der Flüssigkeitssäule konnte dieses simple Verfahren wiederholt und in einer Tischzentrifuge auch beschleunigt werden.

Auf diese Weise gelang zwar keine reine Suspension, aber eine deutliche Anreicherung mit glatten, ungekrümmten Sebstäbchen, so daß durchaus eine Sebstäbchen-Röntgenaufnahme hätte probiert werden können, nur zeigte sich, daß eine mit anderen Zellen und Zellbestandteilen versetzte Lösung kein Medium ist, in dem Sebstäbchen längere Zeit stabil bleiben: nach 5 - 8 Stunden waren die Stäbchen zerfallen oder zu nichtstäbchenförmigen Gebilden degeneriert, innerhalb einer Zeitspanne also, die für eine aussagekräftige Röntgenaufnahme nicht ausreicht.

Diese Beobachtungen können wir wie folgt zusammenfassen. Die Reinheit der Sebstäbchensuspension ist eine Voraussetzung für eine mehrtägige Stabilität der Sebstäbchen. Wir wiederholen an dieser Stelle die Einschränkung, daß unsere Sebstäbchen, wie sie aus der Präparation hervorgehen, nicht mit denen in der Netzhaut identisch sind.

4.3.1. Isolierung der Vesikel

Das Verfahren zur Herstellung einzelner discs ist mit der Stäbchenisolierung bis zur abschließenden Sedimentation identisch und knüpft unmittelbar daran an.

Wir nutzen unsere Beobachtung der Empfindlichkeit der Aus-sensegmente gegenüber "heftigem Pipettieren", indem wir mit ihnen noch gröber umgehen. Das Sediment nach dem Waschen wird in der Salzlösung resuspendiert und in einem Nebler versprüht.

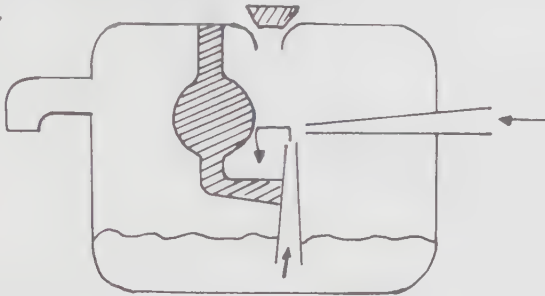


Abb. 13 Nebler zur Herstellung einzelner discs

Der Blasebalg drückt bei geschlossener Einfüllöffnung Luft über das Steigrohr, in dem vom Boden die Suspension angesaugt und gegen den Sperrkolben vor der Austrittsöffnung gesprüht wird, an dem die Suspension dann in das Gefäß zurücktropft. Die Verluste durch das Austrittsrohr hindurch sind vernachlässigbar. Abb. 13a zeigt eine elektronenmikroskopische Aufnahme einzelner discs.

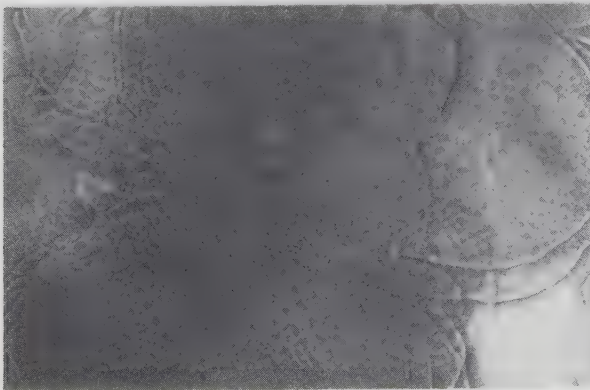


Abb. 13 a
Isolierte discs
PTA-fixiert
(Goebel, Stange)

↑
0.5 μ
↓

In einem Vorversuch mit einem kontinuierlichen Dichtegradienten wird zunächst geprüft, welche Dichte bei einem diskreten Dichtegradienten zu wählen ist und ob oberhalb des disc-Bandes leichtere Teilchen zur Verunreinigung beitragen. Einen kontinuierlichen Dichtegradienten zwischen 1.18 und 1.00 g/cm^3 stellen wir mit einer Quetschpumpe folgendermaßen her:

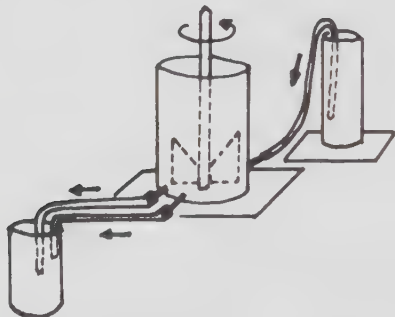


Abb. 14 Kontinuierlicher Dichtegradient

Herstellung eines kontinuierlichen Dichtegradienten.

In einem Gefäß mit Rührer befindet sich die Lösung mit der maximalen Dichte. Während aus dem Gefäß durch zwei Schläuche herausgepumpt wird, wird die Lösung durch einen dritten Schlauch kontinuierlich mit der Lösung minimaler Dichte verdünnt. Wenn der Abstand in den beiden Zentrifugenbechern jeweils zwischen dem Schlauch und dem Flüssigkeitsspiegel knapp gehalten wird, entsteht dort ein kontinuierlicher Dichtegradient, der sich gemäß den Dichten im Rührgefäß ändert.

Ideale Vermischung vorausgesetzt, wird die Dichte in den beiden Zentrifugenbechern linear mit dem Volumen abnehmen (s. Kap. 4.3.2). Wir finden für die discs ebenfalls den Wert der Stäbchen, nämlich 1.14 g/cm^3 .

4.3.2. Mathematische Beschreibung des kontinuierlichen Dichtegradienten

Eine momentane Konzentration im Rührer wird über die beiden Ausflussschläuche an die Zentrifugenröhrchen, in denen der Gradient aufgebaut werden soll, abgegeben.

Zur Beschreibung der Dichte in den Röhrchen wählen wir die Konzentration z.B. der Saccharose im Rührer in Abhängigkeit von dem Volumen, also

$$C = C(V)$$

und fragen zunächst nach der Anzahl der Moleküle im Volumen $V - \Delta V$, also nach

$$C(V - \Delta V) \cdot (V - \Delta V),$$

wenn ΔV eine kleine Volumenänderung pro Zu- oder Abfluß bedeutet. Jene Anzahl entsteht aus $C(V) \cdot V$ dadurch, daß ihr $C_E \cdot \Delta V$ zugeführt und von ihr $2 C(V) \cdot \Delta V$ abgeführt werden, wobei C_E die Konzentration der minimalen Dichte ist, die am Ende vorliegen soll.

Damit lautet die Bilanz der Teilchen:

$$C(V - \Delta V) (V - \Delta V) = C(V) \cdot V - 2 C(V) \cdot \Delta V + C_E \cdot \Delta V$$

Für $C(V - \Delta V)$ werden die beiden ersten Glieder der Taylor-Reihe

$$C(V - \Delta V) = C(V) - \frac{\Delta C}{\Delta V} \cdot \Delta V \pm \dots$$

in die Bilanzgleichung eingesetzt:

$$C(V) \cdot V - \frac{\Delta C}{\Delta V} \Delta V \cdot V - C(V) \cdot \Delta V + \frac{\Delta C}{\Delta V} (\Delta V)^2 \pm \dots = C(V) \cdot V - 2 C(V) \cdot \Delta V + C_E \cdot \Delta V$$

Division durch $-\Delta V$ und Umordnen,

$$\frac{\Delta C}{\Delta V} \cdot V - C(V) - \frac{\Delta C}{\Delta V} \cdot \Delta V \pm \dots = -C_E,$$

sowie der Grenzübergang $\Delta V \rightarrow 0$ ergeben schließlich die Differentialgleichung des kontinuierlichen Dichtegradienten

$$\frac{dc}{dV} \cdot V - c(V) = -c_E$$

mit der die Anfangs- bzw. maximale Konzentration c_A und das Gesamtvolumen V_0 enthaltenden Lösung

$$c(V) = \frac{c_A - c_E}{V_0} \cdot V + c_E$$

Die Dichte im kontinuierlichen Dichtegradienten, ausgedrückt durch die Konzentration $c(V)$, hängt demnach linear vom Volumen V im Rührer, also auch linear vom Volumen im Zentrifugenröhrchen, ab und kann unter Berücksichtigung der Krümmung im Röhrchenboden mit dem Lineal genau bestimmt werden.

5. Messung

5.1. Die Apparaturen

Die Röntgenstrahlen werden entweder in einer Röntgenröhre (600 W , Philips) oder in einer Drehanode (12 kW, Rigaku) erzeugt. Monochromatisiert wird das Röntgenlicht mit einem Kristallmonochromator, (oder im Zählrohr mit einem Energiediskriminator monochromatisch registriert).

Als Kollimator verwenden wir für quantitative Messungen das System von Kratky³⁵ nach Abb. 15,

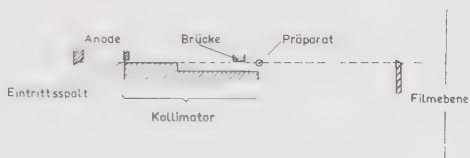


Abb. 15 Schematische Darstellung der Kratkykamera

bei dem der obere Halbraum frei von Blendenstreuung bleibt; Streuung in den unteren Halbraum einschließlich des Primärstrahls wird vom Primärstrahlfänger absorbiert; das Präparat befindet sich entweder unmittelbar am Blendenblock oder dahinter in einer separaten Küvette; registriert werden die gebeugten Röntgenstrahlen auf einem Film oder mit einem ortsabhängigen Zählrohr^{36,37}. Der Raum zwischen Präparat und Registriereinrichtung, die etwa 20 cm voneinander entfernt sind, ist evakuiert.

Dieser Kollimatortyp arbeitet normalerweise mit Strichfocus, dessen Intensität und Ausdehnung sich durch verschiedene Eintrittsspalte zwischen $20\text{ }\mu$ - $120\text{ }\mu$ variieren lassen, und bei zusätzlicher seitlicher Einblendung mit Punktfocus. Bei Übersichtsaufnahmen wird das Kollimatorsystem mit vier Lochblenden nach Kiessig³⁸ bevorzugt.

Bei einem Präparat-Filmabstand von 50 cm kann zwar erst ab $1/200 \text{ \AA}^{-1}$ gemessen werden, dafür lassen sich aber verschiedene Orientierungen bei mehreren Reflexsystemen gut bestimmen.

5.2. Überführung des Sedimentes in ein Streupräparat

a) Die einfachste Methode, aus dem Sehstäbchensediment ein Präparat für die Röntgenbeugung herzustellen, besteht darin, das Sediment im Zentrifugenröhrchen einzutrocknen und ein wenige mm^2 großes Stück abzusplittern. Beispiele hierfür zeigen die Abb.'n 17 .

Der Vorteil des Antrocknenes liegt in einer konzentrierten Packung der Streuzentren und in der Unveränderlichkeit der Probe; bei Stäbchen kommt aber hinzu, daß das Antrocknen mit erheblichen Strukturveränderungen verknüpft ist, die noch von Versuch zu Versuch auch bei äußerlich gleichen Bedingungen völlig verschieden sein können. Eine elektronenmikroskopische Aufnahme, Abb. 16 , läßt zwar noch Vesikelmembranen erkennen, die Vielfalt der nicht zusammengehörenden Reflexe deutet aber darauf hin, daß die Bestandteile der Membran zu voneinander unabhängigen Systemen kristallisieren.

Es ist nicht gelungen, diese 'getrockneten Zustände' stetig und kontrolliert aus den 'feuchten' zu gewinnen.

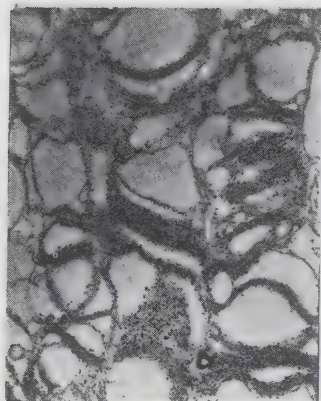


Abb. 16
Elektronenmikroskopische Aufnahme
getrockneter Sehstäbchen (Fritz, Wessel)
Vergr. 20 000 - fach.

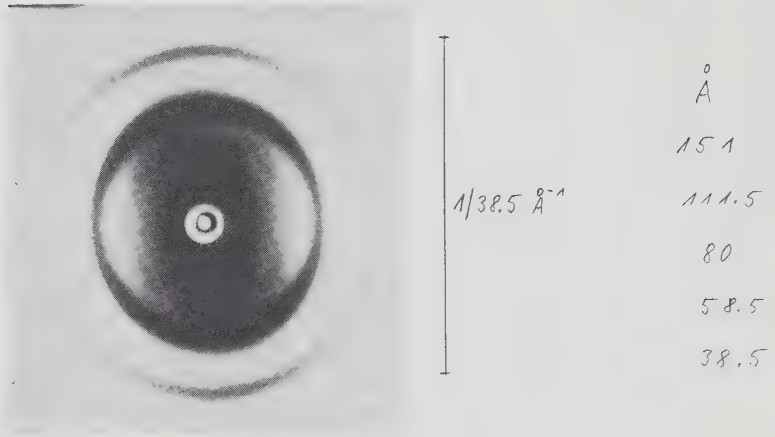
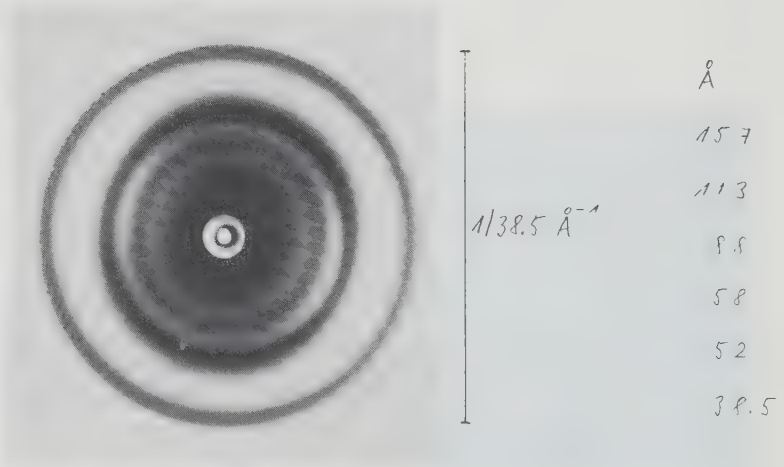


Abb. 17 Röntgenbeugungsdiagramme getrockneter Sehstübchen



b) Bei den Feucht-Aufnahmen sollen die Vorteile der hohen Konzentration an Stäbchen mit der konservierenden Wirkung der experimentell ermittelten, optimalen Salzlösung verknüpft werden.

Wir nennen zwei Verfahren.

I. Das Sediment der abschließenden Zentrifugation wird in etwa 0,1 ml Salzlösung resuspendiert und tropfenweise in eine Markkapillare hineinzentrifugiert.



Die Kapillare ist am unteren Ende dicht so abgeschmolzen, daß die möglichst kleine Schmelzkugel zentriert ist. Ein Kork, der Kapillarenform angepaßt durchbohrt, fungiert als Schwimmer im Zentrifugenröhrchen. Der Einfüllstutzen der Kapillare dient während der Röntgenaufnahme als Flüssigkeitsreservoir; je nach Kürze des Kapillarenschaftes von 3 - 0.5 cm steigt ihre Zerreißfestigkeit von 1000 g in der bequem zu handhabenden Tischzentrifuge bis zu 10 000 g in der zeitlich aufwendigeren Ultrazentrifuge.

Für Langzeitaufnahmen ist diese Methode ungeeignet, weil die Stäbchen in der Kapillare offenbar schnell zerfallen. Wir konnten nach wenigen Tagen keine intakten Stäbchen mehr nachweisen.

II. Das Sediment der abschließenden Zentrifugation wird per Kapillarwirkung von einer Pasteurpipette angesaugt und von dort in einen etwa 3 mm³ großen Bleispalt befördert.



Dieser Präparatträger haftet in einer Küvette, durch die ständig N₂ strömt, welches seinerseits durch ein erwärmtes

Wasserbad geleitet wird, damit das feuchte Sediment nicht austrocknet.

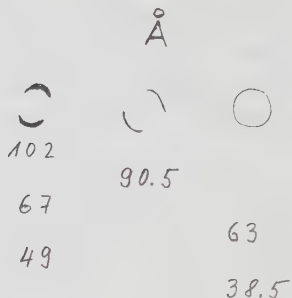


Abb. 18
Röntgenbeugungsdiagramm
feuchter Sehstäbchen

Diese Methode der Konservierung eines feuchten Präparates während der Aufnahme hat am häufigsten gleichbleibende oder sich nur geringfügig ändernde Röntgenaufnahmen geliefert, von denen Abb. 18 ein Beispiel zeigt.

(Hier war die Zusammensetzung der Lösung noch: Ringer I, Tris; pH = 7.5).

Die N₂-Feucht-Zufuhr wird bei allen weiteren Experimenten beibehalten.

5.3 Die Registrierung der Stapelperiode in der Kratky-Kamera.

Bei langdauernden Kratky-Aufnahmen hat sich folgende Form des Präparathalters bewährt:



Erfahrungsgemäß konzentriert sich das Präparat im unteren Drittel. Bei gesicherter N_2 -Feuchtzufuhr ist eine mehrtägige Aufnahmeserie möglich.

Die beiden Abbildungen 20 zeigen eine Stapelserie von $1/214 \text{ \AA}^{-1}$ bzw. $1/238 \text{ \AA}^{-1}$, daneben aber auch Zusatzreflexe. Eine genauere Analyse aller Reflexe erfolgt in Kap. 8.4, in dem diese beiden Aufnahmen ausgewertet werden.

Die Güte des Stapels und der einzelnen Stäbchen zeigt die Abb. 19. Die Stäbchen sind nach 45 h Röntgenaufnahme fixiert worden.

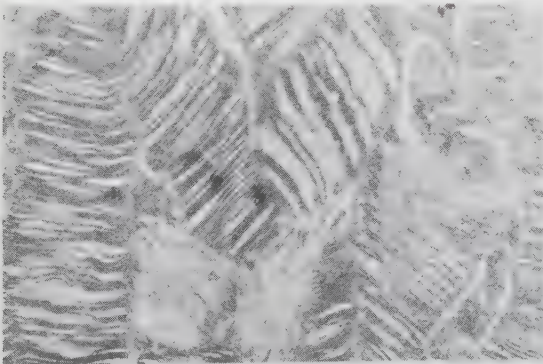
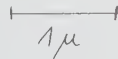


Abb. 19
Elektronenmikroskopische Aufnahme des Feuchtpräparates
(Aufnahme Fritz, Goebel)



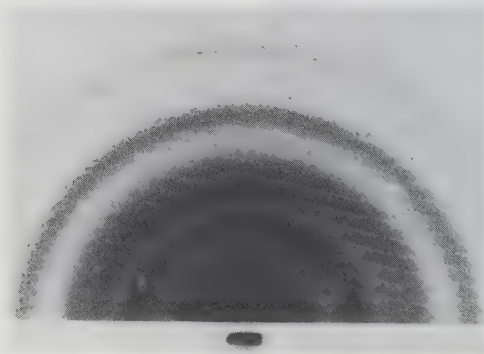
Zu sehen ist eine Vorzugsorientierung der Stäbchen, die sich in einer teilweisen Orientierung der Reflexe äußert, s. Abb. 20.



$1/71 \text{ \AA}^{-1}$

Abb. 20 a

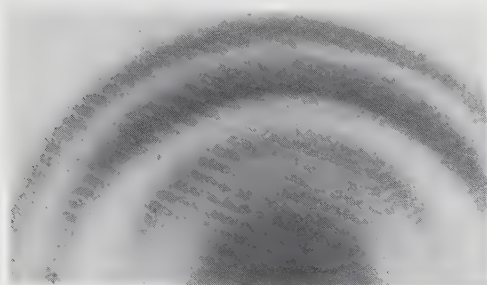
Röntgenbeugungsdiagramme von isolierten Sehstäbchen
in Suspension (Kratky-Kammer)



$1/79 \text{ \AA}^{-1}$

Abb. 20 b

Die Abb. 21 zeigt ebenso wie Abb'n 20 ein äquidistantes



1/69 Å⁻¹

Abb. 21
wie Abb. 20a und b

System von Reflexen; die breite dritte Ordnung aber wird von einem scharfen Zusatzreflex gestört, der nicht separiert werden kann. Diese Aufnahme ist nicht quantitativ auswertbar. Sie zeigt auch, daß eine zugehörige Zählrohraufnahme die dritte Ordnung falsch wiedergeben würde und daß Filmaufnahmen beim Auftreten mehrerer Reflexsysteme unverzichtbar sind.

An diesen Beispielen sehen wir, daß auswertbare Aufnahmen zwei Kriterien erfüllen müssen:

die Reflexe müssen während einer Belichtungsserie stabil bleiben und ferner müssen die Stapelreflexe von den Zusatzreflexen separierbar sein.

Bevor wir auf die Auswertung der hier schon Stapelreflexe genannten äquidistanten Serie eingehen, wollen wir uns davor noch mit der Zuordnung der verschiedenen Reflex-Typen befassen.

6. Trennung der Reflexe in der Kiessig-Kamera als Nachweis einer Flächenstruktur

a) Die Übersichtsaufnahmen des feuchten Zustandes in der Kiessig-Kamera läßt mehrere Kristallsysteme mit verschiedenen Orientierungen erkennen. Zu fragen ist, wie sich die

Reflexe sortieren lassen, ob alle Reflexe z.B. ausschließlich Stapelperioden zuzuordnen sind mit mehreren Stapeltypen, verschieden bezüglich Periode und Orientierung, ob hier Hinweise für eine Flächenstruktur vorliegen oder ob die Stäbchen so weit zerfallen sind, daß sich neue, im in-vivo-Zustand sonst nicht vorhandene, also für den Sehvorgang irrelevante Anordnungen gebildet haben. Zunächst versuchen wir, die Zufallsorientierung der Abb. 18 zu systematisieren. Dies gelingt dadurch, daß wir dem Präparathalter in der Feuchtküvette die Form geben,

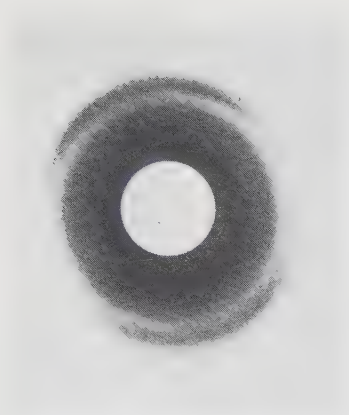


die sich auch bei der Orientierung von Erythrozyten⁴⁸ bewährt hat: in das etwa 3 mm^3 große Volumen zwischen zwei Bleibacken wird das Sediment befördert, das sich darin bei treffender Menge zu einem dünnen Faden zusammenschnürt. Röntgenaufnahmen zeigen die Abb.'n 22 a-d.

b) In der Zusammenstellung der Aufnahmen der Abb.'n 22 a-d können folgende Reflexe nach ihrer Orientierung unterschieden werden:

Wir registrieren ein System der Vielfachen von $1/240 \text{ \AA}^{-1}$ mit waagrechter Vorzugsorientierung, eine Sichel zwischen $1/90$ bis $1/98 \text{ \AA}^{-1}$ mit dazu orthogonaler Vorzugsorientierung (hier genannt 90-er Reflex) und einen fast immer auftretenden desorientierten Reflex zwischen $1/60 - 1/70 \text{ \AA}^{-1}$ (hier genannt 60-er Reflex). Ferner gibt es noch einen schwachen Reflex zwischen $1/45$ bis $1/49 \text{ \AA}^{-1}$, welcher nicht genau vermessen und dementsprechend nur unsicher zugeordnet werden kann (hier genannt 40-er Reflex).

Ausgehend von der Vorstellung, daß sich die Stäbchen bei dieser Versuchsanordnung bevorzugt mit ihrer Stapelachse längs des Fadens ausrichten, ordnen wir die Serie in der Waagrechten einer Stapelperiode von $1/240 \text{ \AA}^{-1}$ zu.



$1/97 \text{ \AA}^{-1}$

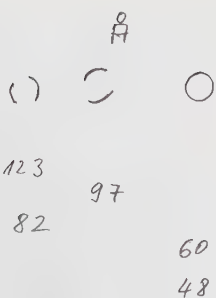
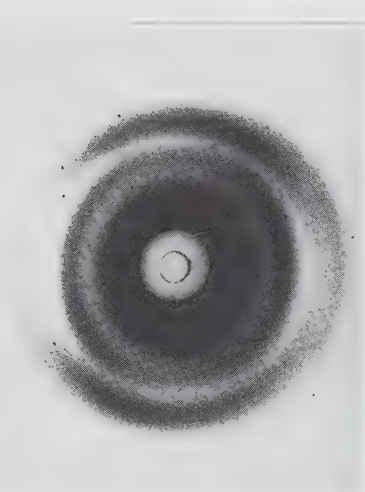


Abb. 22a

Röntgenbeugungsdiagramme orientierter, feuchter
Sehstäbchen in der Kiessig-Kammer



$1/90.5 \text{ \AA}^{-1}$

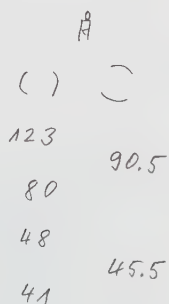
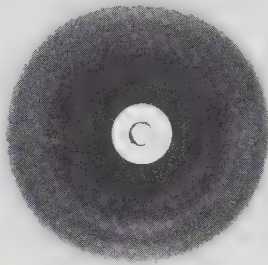


Abb. 22b

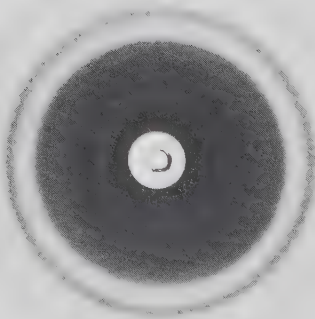


$1/94 \text{ \AA}^{-1}$

$\text{\AA}$		
()	C	O
123		
	94	
80		68.5
48		47.5
41.5		

Abb. 22c

Röntgenbeugungsdiagramme orientierter, feuchter
Sehstäbchen in der Kiessig - Kammer



$1/37.5 \text{ \AA}^{-1}$

$\text{\AA}$		
()	C	C
123		
	37.5	
80		53
41.5		41.5

Abb. 22d

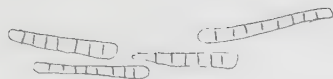


Abb. 23 Stäbchenpräparat als Faden

Die erste Ordnung von $1/240 \text{ \AA}^{-1}$ kann in der Kiessig-Kamera nicht gemessen werden und wird mit der höherauflösenden Kratky-Kamera nachgewiesen (siehe Abb. 20). Mit den Stapelreflexen wird die Projektion der Elektronendichteverteilung auf die Stapelachse berechnet, siehe Kap. 8. Auf die Stapelreflexe gehen wir in diesem Kapitel nicht mehr ein.

c) In einer ersten Folgerung können wir annehmen, daß die orthogonal zu den Stapelreflexen registrierbaren Zusatzreflexe von einer periodischen Struktur in der Membranebene kommen.

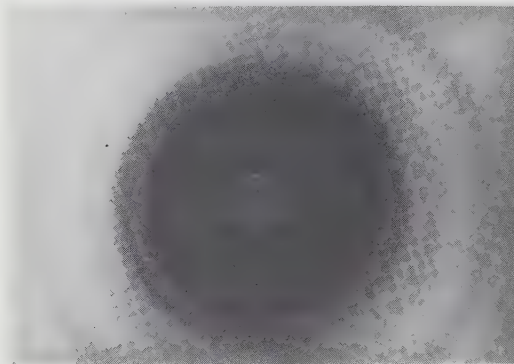
Dagegen kann eingewendet werden, daß sich Membranbestandteile, z.B. Lipide, absondern und getrennt streuen. Bei Chloroplasten⁴⁰ und Mitochondrien⁴⁹ sind diese Entmischungen aber erst bei höheren Trocknungsgraden (bis zu 30 %) aufgetreten, während wir die Reflexe bei 100 % Feuchtigkeit beobachten. Ferner sind über natürliche Lipidgemische noch zu wenig Daten bekannt, um eine schnelle Erklärung zu finden.

d) Schwerwiegender scheint uns das Argument zu sein, die Zusatzreflexe könnten durch partielles Antrocknen an der Fadenoberfläche oder durch Oberflächenspannungen verursacht werden.

Wenn wir in einem Präparathalter so viel Substanz wählen,



daß die Oberfläche gegen das Volumen vernachlässigt werden kann, sollten wir, wenn der genannte Einwand stimmt, andere Zusatzreflexe oder gar keine erhalten.

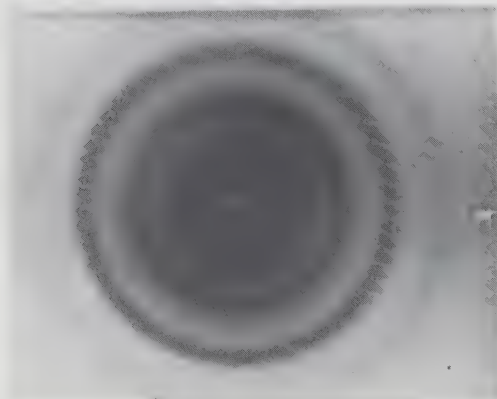


$1/96 \text{ \AA}^{-1}$

Abb. 24
wie 22, aber
desorientiert

Tatsächlich finden wir, s. Abb. 24, gleiche Daten, nun aber mit notwendigerweise desorientierten Reflexen verknüpft: eine auf $1/240 \text{ \AA}^{-1}$ zurückführbare Serie, daneben $1/96$, $1/63$, $1/48 \text{ \AA}^{-1}$.

e) Um die Stapelstreuung zu eliminieren, haben wir mit isolierten discs, s. Kap. 4.3.1, die Röntgenbeugung wieder-



$1/93 \text{ \AA}^{-1}$

Abb. 25
Röntgenbeugungs-
diagramm isolierter
feuchter discs in
der Kiessig - Kammer

holt, und zwar in einer Suspension mit niedriger disc-Konzentration, um eine Stapelbildung zu erschweren, s. Abb. 25. Wir finden wieder die Zusatzreflexe, nun mit den Daten $1/93$, $1/63$, $1/46 \text{ \AA}^{-1}$, wieder desorientiert. Auf dem Original ist daneben noch ganz schwach ein Reflex von etwa $1/112 \text{ \AA}^{-1}$ zu sehen, der einen Rest von Stapelbildung anzeigen könnte.

f) Die Zusammenfassung der in a) bis e) genannten experimentellen Befunde rechtfertigt nach unserer Auffassung die Vermutung, die Zusatzreflexe auf eine Flächenstruktur zurückzuführen. Wir werden dabei zu beachten haben, daß die Art der Präparation ein Hineinschnappen der ursprünglich fluiden Membran in ein Gitter begünstigen kann; wir meinen aber, daß die schonende Behandlung der Stäbchen und ihre mehrtägige Konservierung so weit gelungen ist, daß Rückschlüsse auf den in-vivo-Zustand zulässig sind.

Wir nehmen an, daß die fluide Membran bereits solche Untereinheiten enthält, die durch die Zusatzreflexe charakterisiert sind und sich durch die Präparation aneinanderlagern, die aber nicht über eine Denaturierung erst entstehen. Diesen Untereinheiten bereits eine konkrete Form zu geben, leistet unsere Untersuchungsmethode alleine nicht. Dies ist um so schwieriger, als selbst solche Probleme wie die Proteinzusammensetzung der Membran in einer komplexeren Betrachtungsweise neu gesehen werden¹⁹.

Bei den Chloroplasten⁴⁰ ist ebenfalls ein 40-er Reflex gefunden worden und zwar immer zusammen mit einem 60-er, aber ohne den 90-er. Wenn ein $40 \text{ \AA}$ -Bereich zu den gemeinsamen Strukturmerkmalen zwischen verschiedenen Membranen gehören sollte, müssen wir den 40-er Reflex selbständig und unabhängig vom 90-er einstufen.

Für eine mögliche Deutung der Flächenreflexe haben wir uns auch helicale Elektronendichteverteilungen vorzustellen versucht. Es müssen nicht isolierbare Helices sein, die die Reflexe verursachen, sondern es genügt, wenn der Röntgenstrahl gegenüber einer ungeordneten Umgebung helicale oder sin-

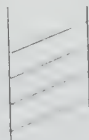
förmige Bereiche 'sieht' , die aus Proteinen und Lipiden zusammengesetzt sein können.



Denken wir uns elektronisch dünne und dichte Proteine mit ihren Schwerpunkten auf zwei lineare Gitter verteilt, dann ist es denkbar, daß die gesamte Verteilung durch einen sinus eher beschrieben wird als durch zwei Punktreihen. (Es ist in einigen Fällen müßig, darüber zu streiten, welcher Standpunkt richtiger ist. In Kap. 10 werden wir eine Helix stetig in ein lineares Gitter überführen, das dann in Helixkoordinaten beschrieben wird).

Es ist uns nicht gelungen, mit Helices unsere experimentellen Daten zu erklären. Wir haben es deshalb vorgezogen, den Vergleich der Zusatzreflexe mit helicalen Beugungsmustern aus diesem Kapitel ganz herauszunehmen, und die Beugungsfiguren der einfachsten Helixmodelle (einfach = mathematisch einfach) im Kapitel 10. gesondert zu behandeln.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, den Wulst der discs in die Betrachtung einzubeziehen.



Denkbar sind Proteinketten, die dem Rand der Vesikel die nötige Krümmung geben und für einen oder mehrere unserer Zusatzreflexe verantwortlich sind (nach einem Vorschlag von Kreutz).

7. Bemerkungen über die durch Verwackelungen bedingte "Lorentzkorrektur"

a) Wenn bisher von Intensität die Rede war, dann immer von derjenigen, die eine feste Orientierung des Beugungsobjektes gegenüber der einfallenden Strahlung voraussetzte.

In Wirklichkeit beweisen die Sicheln auf unseren Punktfocus-aufnahmen erhebliche Desorientierungen. Das Problem besteht darin, einen Zusammenhang herzustellen zwischen derjenigen Intensitätsfunktion, die einer bestimmten Orientierung entspricht und ausgewertet werden soll, und derjenigen, die einer Überlagerung mehrerer Orientierungen entspricht und die gemessen werden kann.

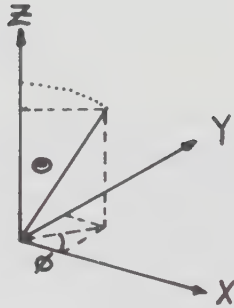
Die Transformation, die die gemessene in die auszuwertende Intensität überführt, heißt Lorentzkorrektur. Sie ist in einfachsten Fällen, die auch wir am Ende verwenden werden, näherungsweise ein Faktor.

Bei einzeln Streuenden wie Stäbchen oder Plättchen hat Porod³⁹, ausgehend von der Debye'schen Streuformel⁴³, diese Faktoren proportional zu $\sin \vartheta$ bzw. $\sin^2 \vartheta$ angegeben.

Da Desorientierungen mit einem Informationsverlust verbunden sein können, wollen wir die Lorentzkorrektur näher erläutern.

Wir verfahren in der Weise, daß wir uns eine 3-dimensionale Fouriertransformation $F(X,Y,Z)$ vorstellen, sie um ihren Ursprung drehen und sie in jedem Punkt durch ihr Betragsquadrat ersetzt denken. Wir haben es also jetzt mit vollständigen Fouriertransformationen zu tun und nicht mit den auf der Ewald-Kugel beschränkten Ausschnitten, die wir gesondert Strukturamplituden genannt hatten.

Fällt die Einfallrichtung mit der X-Achse zusammen, dann ist in unserer Näherung die Ewald-Kugel mit der Z,Y-Ebene identisch. Zunächst holen wir nach, daß Drehungen im Orts- und Fourier-Raum synchron gehen. Ähnlich wie in Gl. (3.4) argumentieren wir:



Sei D in der Lage, eine Figur $f(u)$ zu drehen, so ist äquivalent erlaubt, sich vorzustellen, f bleibe fest, und das Koordinatensystem, in dem der Ortsvektor u definiert ist, werde entgegengesetzt gedreht, in Zeichen

$$D f(u) = f(D^{-1} u)$$

Ausgehend von einer Fouriertransformation auf f , fragen wir mit dieser Vereinbarung nach der Wirkung einer Fouriertransformation auf $D \cdot f$

$$F(k) = \int f(u) e^{2\pi i u \cdot k} dV$$

$$F(D k) = \int e^{2\pi i u \cdot D k} f(D^{-1} u) dV$$

Denken wir uns u im Skalarprodukt $u \cdot k$ als Spaltenvektor (eine erlaubte und hier nützliche Vorstellung), und ist D eine Matrix, gilt

$$u \cdot D k = D^{-1} u \cdot k$$

also auch

$$u \cdot k = u \cdot D D^{-1} k = D^{-1} u \cdot D^{-1} k$$

$$F(D k) = \int e^{2\pi i D^{-1} u \cdot D^{-1} k} f(D^{-1} u) dV$$

Einführung einer neuen Variablen $u' = D^{-1}u$ ergibt mit $dV = dV'$ (Jacobi-Determinante ist bei Drehungen 1)

$$\begin{aligned} \mathcal{F} \circledast f(u) &= \int e^{2\pi i u' \cdot k} D^{-1} k f(u') dV' \\ &= F(D^{-1} k) = \mathcal{D} F(k) \end{aligned}$$

mit der Vereinbarung oben. Also wird die Fouriertransformierte $F(k)$ ebenso gedreht wie das Beugungsobjekt.

Nur diejenigen Punkte des Fourierraumes liefern Intensitäten, die sich gerade in der Ewald-Kugel bzw. der Y,Z-Ebene befinden. Für jede Orientierung gilt der in Gl. (3.6.a) erläuterte Projektionssatz: die sich gerade in der Y,Z-Ebene aufhaltenden Fourierwerte entsprechen der zugehörigen Projektion des Objektes auf die y,z-Achse.

Die Anschauung lehrt schon, wie durch Desorientieren bei geeignet ausgedehnten $F(X,Y,Z)$ verschiedene Projektionen überlagert werden.

Wir fragen nach der Intensität, die sich in einem Punkt $(0,0,\tilde{Z})$ auf der Z-Achse entsprechend unserer Densitometrierrichtung anhäuft.

Statt darauf zu warten, welche Punkte eines Körpers $F(X,Y,Z)$ beim Drehen durch den Punkt $(0,0,\tilde{Z})$ laufen, können wir dem Körper eine beliebige, dann aber feste Orientierung geben und den Radiusvektor $(0,0,\tilde{Z})$ um den Ursprung des reziproken Raumes kreisen und seine Spitze, die eine Kugelfläche überstreicht, Intensitäten sammeln lassen:

sind Θ und ϕ die üblichen Winkel für Kugelkoordinaten und ordnen wir jedem Flächenelement

$$\tilde{Z}^2 \sin \Theta d\Theta d\phi \quad \text{ein} \quad |F(X,Y,Z)|^2$$

zu, bilden wir für festes $\tilde{Z}$

$$(7.1) \quad \int |F(X,Y,Z)|^2 \tilde{Z}^2 \sin \Theta d\Theta d\phi$$

und dividieren, um zur Intensitätsdichte zurückzukehren,

dieses Integral ebenfalls bei festem $\tilde{Z}$ durch

$$(7.2) \quad \int \tilde{Z}^2 \sin \Theta \, d\Theta \, d\phi$$

Zähler und Nenner ergeben die im Punkte $(0,0,\tilde{Z})$ angehäuften Intensität $I(\tilde{Z})$.

Da die Integration für jeweils feste $\tilde{Z}$ durchgeführt wird, kürzen sie sich im Zähler und Nenner heraus: damit läßt sich das Problem exakt so formulieren:

$$(7.3) \quad I(\tilde{Z}) = \frac{1}{4\pi} \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi} |F(X,Y,Z)|^2 \sin \Theta \, d\Theta \, d\phi$$

Die rechtwinkligen Koordinaten sind zu ersetzen durch Kugelkoordinaten mit $\tilde{Z}$ als Radius:

$$X = \tilde{Z} \sin \Theta \cos \phi$$

$$Y = \tilde{Z} \sin \Theta \sin \phi$$

$$Z = \tilde{Z} \cos \Theta$$

Dieser Ausdruck unterscheidet sich von dem Wert $|F(0,0,Z)|^2$, den wir eigentlich haben wollen, dadurch, daß durch die Ausdehnung der reziproken Figur $F(X,Y,Z)$ im Punkt $(0,0,\tilde{Z})$ alle die Werte der Punkte (X,Y,Z) addiert werden, die auf der vom Radius $\tilde{Z}$ erreichbaren Kugeloberfläche liegen. Ist die Desorientierung nicht homogen wie bei unseren Sichelzellen, muß der Integrand noch mit einer meist nur von Θ abhängigen Statistikfunktion multipliziert werden.

Wir lesen aus Gl. (7.3) ab:

1. Der Zusammenhang zwischen dem auszuwertenden $|F(0,0,Z)|^2$ und dem zugänglichen $I(\tilde{Z})$ ist i.a. nicht auflösbar.
2. Das Problem muß für jedes Beugungsobjekt getrennt gelöst werden.

Eine formal näherungsfreie Lösung hat Deas⁴² geliefert, indem er die Intensität nach Kugelfunktionen entwickelt. Deutlich wird bei ihm der Informationsverlust durch Integrieren um Objektachsen. Gemessen werden müssen bei diesem

Formalismus Koeffizienten für die Reihenentwicklungen, aber dafür reicht unsere Messgenauigkeit nicht aus. Der Formalismus ist aber so genau durchführbar, daß selbst im Falle einer linearen Kette die Rückkehr zur Debye'schen Streuformel nach diversen Umwegen exakt möglich ist.

b) Das bisher gesagte soll an dem schon von Porod³⁹ angegebenen Beispiel eines dünnen, langen Zylinders erläutert werden. Die x,y- bzw. X,Y-Anteile werden in Polarkoordinaten (r, φ) bzw. (R, Φ) zusammengefasst.

$$(7.4) \quad \begin{array}{c} \uparrow z \\ \text{Diagram of a cylinder with a coordinate system } (r, \varphi) \text{ and } (R, \Phi) \end{array} = \begin{cases} 1 & r \leq r_0 \\ 0 & r > r_0 \end{cases} \cdot \begin{cases} 1 & |z| \leq z_0/2 \\ 0 & |z| > z_0/2 \end{cases}$$

mit $r_0 \ll z_0$

Die Fouriertransformation lautet, s. Anhang 1.c,

$$F(X, Y, Z) =$$

$$(7.5) \quad F(R, Z) = 2\pi r_0^2 \frac{j_1(2\pi r_0 R)}{(2\pi r_0 R)} \cdot z_0 \frac{\sin \pi z_0 Z}{\pi Z}$$

und sein Betragsquadrat ist proportional zu

$$(7.6) \quad |F(X, Y, Z)|^2 \sim \left(\frac{j_1(\quad)}{(\quad)} \right)^2 \cdot \left(\frac{\sin \pi z_0 Z}{\pi Z} \right)^2$$

Bevor wir dies in die Intensitätsformel (7.3) einsetzen (mit $R = \tilde{Z} \sin \Theta$), betonen wir folgende Vereinbarungen:

der in

$$\left(\frac{j_1(\quad)}{(\quad)} \right)^2$$

zusammengefasste X,Y-Anteil ist gegenüber dem Z-Anteil langsam oszillierend. Wir ersetzen ihn in dem schmalen Be-

reich, in dem die Z-Integration ihre Hauptanteile liefert, an der Stelle $R' = \tilde{Z} \sin \Theta'$ durch einen mittleren Wert; er stimmt um so besser mit dem richtigen überein, je dünner die $\sin Z/Z$ -Schicht ist. Während der Integration ändert sich der Z-Anteil mit $\sin Z/Z$. Hiermit lautet für dieses besondere Problem unsere Intensitätsformel mit

$$(') = 2\pi r_0 R \sin \Theta'$$

$$(7.7) \quad I(\tilde{Z}) \sim \left(\frac{J_1(')}{(')} \right)^2 \tilde{Z}_0^2 \int_0^{\pi/2} \left| \frac{\sin(\pi z_0 \tilde{Z} \cos \Theta)}{z_0 \tilde{Z} \cos \Theta} \right|^2 \sin \Theta d\Theta$$

Die Substitution $t = \pi z_0 \tilde{Z} \cos \Theta$
führt über $\sin \Theta d\Theta = dt / \pi z_0 \tilde{Z}$

zu dem wichtigen Vorfaktor $1/\tilde{Z}$.

$$(7.8) \quad I(\tilde{Z}) \sim \left(\frac{J_1(')}{(')} \right)^2 \frac{2z_0}{\pi} \frac{1}{\tilde{Z}} \int_0^{\pi z_0 \tilde{Z}} \left(\frac{\sin t}{t} \right)^2 dt$$

Ist z_0 genügend groß, können wir das Integral durch seinen Grenzwert $\pi/2$ ersetzen. Als Kriterium dient, wie weit die obere Grenze vom ersten Nulldurchgang des Integranden entfernt ist. Wir vergleichen:

$$\pi z_0 \tilde{Z} = \pi, \quad \tilde{Z} = 2 \sin \vartheta / \lambda$$

Seien $z_0 = 1500 \text{ \AA}$
und $\lambda = 1.5 \text{ \AA}$
dann folgt $2 \sin \vartheta = 10^{-3}$

Für Streuwinkel, die deutlich größer als 10^{-3} sind - die meisten Messungen fangen erst bei $5 \cdot 10^{-3}$ an - können wir die verbliebene Integration durch $\pi/2$ ersetzen und finden so abschließend das Ergebnis:

die durch gleichförmige Desorientierung eines langen, dünnen Zylinders entstehende Intensitätsformel

$$(7.9) \quad I(\tilde{Z}) \sim \frac{1}{\tilde{Z}} \cdot \left| \frac{f_1(2\pi r_0 \tilde{Z} \sin \vartheta')}{(2\pi r_0 \tilde{Z} \sin \vartheta')} \right|^2$$

besteht aus dem Streuanteil eines Zylinderquerschnittes, der multipliziert wird mit

$$1/\tilde{Z} = \lambda/2 \sin \vartheta \quad .$$

Dieser Faktor heißt Lorentzfaktor oder Porod'scher Stäbchenfaktor.

Erinnern wir noch einmal an die Ausgangslage, in der der Zylinder auf der x,y-Ebene steht, seine Fouriertransformation also ihre Hauptanteile gemäß (7.5) um die X,Y-Ebene herum hat, dann hat der Intensitäten sammelnde Radiusvektor (0,0, $\tilde{Z}$) bei seiner Bewegung um (0,0,0) die gesamte Intensität um 90° gedreht.

Allerdings entspricht der im Argument $2\pi r_0 \tilde{Z} \sin \vartheta'$ stehende Zylinderdurchmesser nicht dem richtigen.

ϑ' ist nur fast $\pi/2$; $\sin \vartheta'$ wird auf r_0 abgewälzt; das gemessene r_0' erscheint gegenüber dem richtigen r_0 verkürzt.

Hierin findet sich das zu Anfang Gesagte wieder, wonach alle Projektionen zu überlagern sind.

Für $Z_0 \rightarrow \infty$ können wir im Integral (7.7) die Darstellung der δ -Funktion nach Anhang 2.c übernehmen. Beachten wir dabei Anhang 2.d, finden wir wieder Gl. (7.9), nur mit $2\pi r_0 R$ statt $2\pi r_0 R'$ bzw. $2\pi r_0' R$, weil das mittlere ϑ' genau $\pi/2$ ist.

Ohne Näherung schafft es der Lorentzfaktor in diesem extremen Fall, die gemessene Intensität aller Orientierungen in den Fall überzuführen, in dem die Zylinderachse mit der Einfallsrichtung übereinstimmt.

Bei diesem einfachen Beispiel ist es immerhin möglich, auch bei endlichen Dimensionen wenigstens eine Näherungsformel (7.8) anzugeben. Die Näherung besteht nur darin, daß der richtige Zylinderradius nicht genau herauskommt. Davon aber abgesehen, ist die Formel (7.8) exakt; sie enthält den eigent-

lichen Lorentzfaktor $\frac{1}{\gamma} = \frac{1}{\gamma}$ und eine Korrekturfunktion, die nur im Fall unendlicher linearer Ausdehnung gegen die objektunabhängige Konstante $\pi/2$ konvergiert. Bei endlichem z_0 ist die Korrekturfunktion von z_0 und sogar vom Meßpunkt Z abhängig. Bei anderen realen Objekten wird es nicht einmal gelingen, wie ein Blick auf die Ausgangsgleichung lehrt, eine endgültige Formel vergleichbar der Gl. (7.8) für die Lorentzkorrektur anzugeben. Dies ist der Grund, die Vereinfachung auch bei biologischen Objekten soweit zu treiben, daß von der Lorentzkorrektur nur der Lorentzfaktor übrigbleibt.

c) Ein Beispiel dafür, daß es nicht möglich ist, die Intensitätsfunktion eines desorientierten Falles durch einen einfachen Faktor wie $\lambda/2 \sin \vartheta$ in jene des orientierten zu überführen, liefert die Debye'sche Streuformel⁴³

$$(7.10) \quad I(\vartheta) = 2 + 2 \frac{\sin(4\pi L \sin \vartheta / \lambda)}{4\pi L \sin \vartheta / \lambda}$$

für zwei Punkte im Abstände L , wenn der Vektor L alle Orientierungen gleichmäßig annehmen kann. Diese Funktion diene zugleich als Test für unseren Formalismus (7.3). Wir haben dort den beiden Punkten eine feste Lage zu geben, für die wir $(0,0,-L/2)$ und $(0,0,L/2)$ wählen, und über das Be-
tragsquadrat der Fouriertransformierten längs der Kugel mit dem Radius Z zu integrieren

$$g(x, y, z) = \begin{array}{c} \uparrow z \\ \swarrow \searrow \\ \bullet \end{array} = \delta(x) \cdot \delta(y) \cdot \left(\delta\left(z + \frac{L}{2}\right) + \delta\left(z - \frac{L}{2}\right) \right)$$

$$(7.11) \quad \int g = 1(X) \cdot 1(Y) \cdot 2 \cos \pi L Z$$

$$I(\tilde{Z}) = \frac{1}{4\pi} \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi} 1^2(\tilde{Z} \sin \Theta \cos \phi) 1^2(\tilde{Z} \sin \Theta \sin \phi) \cdot \\ \cdot 4 \cos^2(\pi L \tilde{Z} \cos \Theta) \cdot \\ \cdot \sin \Theta d\Theta d\phi$$

Integration über ϕ :

$$I(\tilde{Z}) = 2 \int_0^{\pi} \cos^2(\pi L \tilde{Z} \cos \theta) \sin \theta d\theta$$

Substitution von $\pi L \tilde{Z} \cos \theta$ und Integration ergeben mit wenigen Umformungen

$$I(\tilde{Z}) = 2 + 2 \frac{\sin 2\pi L \tilde{Z}}{2\pi L \tilde{Z}}$$

und das ist mit $\tilde{Z} = 2 \sin \vartheta / \lambda$ gerade (7.10).

Darauf müßte der Operator

$$\mathcal{L} = 2\pi L \tilde{Z} \cdot \cotg \pi L \tilde{Z} - 2$$

angewandt werden, um den orientierten Fall (7.11) zu gewinnen.

d) Unsere Streuobjekte sind Stapel von Vesikeln. Formel (7.3) auf den realen Fall angewandt, führt zu nicht streng lösba-
ren Integralen. Dagegen wird die Bestimmung des Lorentzfak-
tors einfach, wenn wir die Vesikel durch ∞ große Scheiben
näheren bzw. die Verteilungen der Intensitäten, wären die
Stapel orientiert, als punktförmig annehmen. Für den Lorentz-
faktor einer einzelnen Scheibe, den Porod'schen Blättchen-
faktor³⁹, geben wir eine schnelle Herleitung im Anhang 4.
Hier wollen wir den Lorentzfaktor des Stapels unendlicher
Flächen im Abstande d nach Gl. (7.3) ausführlich berech-
nen.

$$g(x, y, z) = 1(x) 1(y) \sum_n \delta(z - n d)$$

$$f g = \delta(X) \delta(Y) \sum_n \delta(Z - n/d)$$

Im endlichen Fall hätten wir statt $\delta(X)$

$$\sin a X / X$$

und im Intensitätsraum $\left(\frac{\sin a x}{x} \right)^2$

Mit Hilfe des mathem. Anhanges 2.c können wir im limes für
die Intensität $I(0,0,Z)$ schreiben

$$\delta(X) \delta(Y) \sum_n \delta(Z - n/d)$$

$$I(\tilde{z}) = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi} \delta(\tilde{z} \sin \theta \cos \phi) \delta(\tilde{z} \sin \theta \sin \phi) \\ \cdot \sum_n \delta(\tilde{z} \cos \theta - n/d) \sin \theta d\theta d\phi$$

Sukzessives Anwenden, s. Anhang 2.d, von

$$\delta(f(x)) dx = \frac{\delta(x-x_0)}{|f'(x)|} dx, \quad x_0 \text{ einfache Null-} \\ \text{stelle von } f(x),$$

von links nach rechts im Integranden führt zu

$$I(\tilde{z}) = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi} \frac{\delta(\phi - \pi/2)}{\tilde{z} \sin \theta} \delta(\tilde{z} \sin \theta \sin \phi) \cdot \\ \cdot \sum_n \delta(\tilde{z} \cos \theta - n/d) \sin \theta d\theta d\phi \\ = \frac{1}{\tilde{z}} \int_0^{\pi} \delta(\tilde{z} \sin \theta) \cdot \sum_n \delta(\tilde{z} \cos \theta - n/d) d\theta \\ = \frac{1}{\tilde{z}} \int_0^{\pi} \frac{\delta(\theta - 0)}{\tilde{z}} \sum_n \delta(\tilde{z} \cos \theta - n/d) d\theta \\ (7.12) \quad = 1/\tilde{z}^2 \sum_n \delta(\tilde{z} - n/d).$$

Mit $\tilde{z}^2$ ist $I(\tilde{z})$ in den orientierten Fall $\sum_n \delta(\tilde{z} - n/d)$ überführbar.

Diese Formel gilt gemäß ihrer Herleitung auch für kleine Verwackelungen.

e) Um zwischen der Densitometerkurve und der auszuwertenden Intensitätsfunktion einen Zusammenhang herzustellen, gehen wir vom Zähler und Nenner in der Gl. (7.1) bzw. (7.2) aus. Der Densitometerspalt, den wir mit dem Volumenelement neben dem Integranden vergleichen können, ändert seine Ausdehnung nicht im Gegensatz zu

$$\tilde{z}^2 \sin \theta d\theta d\phi.$$

Wollten wir die densitometrierte Funktion mit $I(\tilde{z})$ identifizieren, müssen wir das variable Volumenelement für Ku-

gelkoordinaten durch ein konstantes $dXdYdZ$ ersetzen und das $\tilde{Z}^2$ im Nenner weiter mitführen.

In dieser Darstellung deutet sich die Lorentzkorrektur so: Die Nennerintegration führt zum Faktor $1/\tilde{Z}^2$.

Die Zählerintegration liefert eine Korrekturfunktion, die die Ausdehnung der Intensitätswölkchen bzw. den Einfluß sich überlappenden Projektionen berücksichtigt; diese Korrektur setzen wir einer Konstanten gleich mit der Annahme, daß wegen der großen Vesikel die Intensitäten in zwei Dimensionen zusammenschrumpfen (längs der dritten Dimension wirkt der Gitterfaktor).

Anschaulich läßt sich der Lorentzfaktor dann als Verdünnung der Intensitätswölkchen auf ihren mit zunehmender Ordnung größer werdenden Kugelkalotten deuten.

Statt $1/\tilde{Z}^2$ erhielten wir $1/\tilde{Z}$, wenn wir die Rechnung für zylindersymmetrische Desorientierungen durchführten.

f) Zum Abschluß dieses Kapitels wollen wir noch auf eine falsche Folgerung aufmerksam machen, die dann entsteht, wenn im Intensitätsraum nur in mathematischen Punkten und Flächen gedacht wird.

Folgender Schluß ist für den mit endlichen, nicht ideal orientierten Objekten und wegen mangelnder Monochromasie stets aufgeweiteten Ewald-Kugeln konfrontierten Experimentator nicht zulässig:

Ein lineares Gitter aus ∞ ausgedehnten Flächen komme in einem System in diskreten Orientierungen gleicher Häufigkeit vor, und jedes Gitter sei für sich fest, also auch sein reziprokes. Bei geeigneter Wahl der Orientierungen fällt in die ideale Ewald-Kugel von jedem reziproken Gitter entweder nur ein Punkt oder gar keiner. Das Registrieren aller Punkte in der Ewald-Kugel liefert ein reziprokes Gitter als Abbild des linearen Gitters $\propto$ ausgedehnter Flächen. Also existiert kein Lorentzfaktor.

Genau für dieses Problem liefert unser Formalismus, siehe Gl. (7.12), den Lorentzfaktor $1/\tilde{Z}^2$.

8. Auswertung der Stapelreflexe

8.1. Das Prinzip der Auswertung

Die Möglichkeit, aus einer Intensität $I_o(\ell)$ eine Elektronendichte zu gewinnen, obgleich die Elektronendichte ρ_e nur mit der Strukturamplitude

$$(8.1) \quad H_o(\ell) = \int \rho_e(z)$$

ohne Informationsverlust verknüpft ist, hingegen die Intensität

$$(8.2) \quad I_o(\ell) = |H_o(\ell)|^2$$

aus der Strukturamplitude durch phasenvernichtende Bildung des Betragsquadrates hervorgeht, greift auf zwei Stützen zurück:

1. es existiert eine Funktion $Q_o(z)$, aus der sich $\rho_e(z)$ berechnen läßt;
2. $Q_o(z)$, eine Autokorrelationsfunktion, kann aus der Intensität bestimmt werden.

Punkt 1. deuten wir zunächst am primitivsten Fall an.

Q_o bestehe so aus drei Strichen, daß es symmetrisch ist:

$$Q_o = | \begin{array}{c} | \\ | \\ | \end{array} | = (a_1, a_0, a_1)$$

das zugehörige Faltungsquadrat lautet

$$Q_o = (a_1^2, a_0 a_1 + a_1 a_0, a_1^2 + a_0^2 + a_1^2, a_1 a_0 + a_0 a_1, a_1^2) \\ = (Q(2), Q(1), Q(0), Q(1), Q(2))$$

Ist umgekehrt Q_o vorgegeben, liefert die Entfaltung

$$a_1 = \pm \sqrt{Q(1)}, \quad a_0 = Q(0)$$

Bei unserer Erläuterung kommt es auf folgende Gesichtspunkte an:

1. mit g_0 ist auch $\sim g_0$ Faltungswurzel;
2. die Entfaltung funktioniert bis auf ein gemeinsames Vorzeichen nur dann eindeutig, wenn g_0 entweder symmetrisch oder antimetrisch ist; im beliebigen Fall gibt es ∞ viele Lösungen.

Das Schema, zwei Zahlenkolonnen $g_0 = (a_1, a_2, \dots, a_n)$ übereinanderzuschieben, Q_0 als bilineare Form des g_0 darzustellen und dann g_0 wieder zu gewinnen, läßt sich im Prinzip auf ausgedehntere Fälle erweitern und liefert ebenfalls eine bis auf ein gemeinsames Vorzeichen eindeutige Lösung.

Diese Methode ist von Kreutz⁴⁰ verwendet worden. In der Praxis hat sie sich nicht bewährt, weil die Entfaltung vom letzten Wert, oben $Q(2)$ aufgerollt wird und sich der erste Bestimmungsstrich, oben a_1 , durch das gesamte Verfahren zieht; wir wollten hier auch nur deutlich machen, daß eine Funktion Q_0 bis auf ein gemeinsames Vorzeichen eindeutig entfaltet werden kann, wenn Q_0 als Faltungsquadrat einer reinen symmetrischen oder antimetrischen Funktion darstellbar ist, und zum Belegen der Behauptung hat das Verfahren nach wie vor seinen Wert und wäre per Konstruktion bei Treppenfunktionen ideal geeignet.

Besser bewährt hat sich eine integrale Methode von Pape⁴¹, bei der sich lokale Fehler kaum auswirken:

in die Definition

$$(8.3) \quad Q_0(z) = \int_{-\tilde{\pi}+z}^{\tilde{\pi}} g_0(z') g_0(z+z') dz', \quad z \in [0, 2\tilde{\pi}],$$

in der $g_0(z')$ auf $[-\tilde{\pi}, +\tilde{\pi}]$ normiert ist und der Parameter z die Verschiebung des einen g_0 gegenüber dem anderen bezeichnet sowie auch die aktuelle Integrationsgrenze festlegt, werden die endlichen Reihenentwicklungen

$$g_0(z') = a_0 + \sum_{n=1}^N a_n \cos n z'$$

und
$$\varphi_0(z+z') = a_0 + \sum_{m=1}^N a_m \cos m(z+z')$$

eingesetzt und die Integrationen gliedweise ausgeführt.

Die cos-Reihe garantiert die Symmetrie des φ_0 und könnte durch eine sin-Reihe bei Antimetrie ersetzt werden. Nach einfachen, aber langwierigen Rechnungen unter wiederholter Ausnutzung solcher Beziehungen wie

$$\cos(x+y) = \cos x \cos y - \sin x \sin y$$

entsteht (s. Anhang 5.) eine Darstellung für Q_0 mit folgender Eigenschaft: die Terme mit $|a_n|^2$ sind mit cos-Gliedern gekoppelt, jene mit $a_n \cdot a_m$ mit sin-Gliedern; also liefern cos-Integrationen über Q_0 die Beträge der a_n und sin-Integration ein lineares Gleichungssystem für die Vorzeichen der a_n , die sich so bis auf ein gemeinsames Vorzeichen eindeutig bestimmen lassen.

Statt $z \in [0, 2\pi]$ hätten wir, weil $Q_0(z)$ symmetrisch ist, auch $z \in [-2\pi, 0]$ wählen können und erhielten dann das Ergebnis, das aus Anhang 5. durch die Substitution $z \rightarrow -z$ hervorginge.

Würden wir die Faltung in Gl. (8.3) auf $[-2\pi, +2\pi]$, den vollständigen Definitionsbereich der Q_0 -Funktion, ausdehnen oder zur Darstellung Anhang 5. jenen Ausdruck addieren, der sich aus (8.3) für $z \in [-2\pi, 0]$ ergäbe, würden sich die sin-Glieder wegheben, und Q_0 würde symmetrisch.

Grafisch können wir dieses Verfahren so verdeutlichen, daß wir Q_0 in seine linke und rechte Hälfte Q_L und Q_R zerlegen und dann jede Hälfte aus ihren symmetrischen und antisymmetrischen Anteilen f_s und f_a bilden gemäß

$$\begin{aligned} Q_L(z) &= f_{sL}(z) + f_{aL}(z) \\ Q_R(z) &= f_{sR}(z) - f_{aR}(z) \\ f_{aR}(z) &= \frac{1}{2} Q_L(z) - \frac{1}{2} Q_L(-z) \\ f_{aL}(-z) &= \frac{1}{2} Q_R(-z) - \frac{1}{2} Q_R(z) \end{aligned}$$

und analog für $f_{es}(\pm z)$, $Q_{\tau}(\pm z)$, $f_{\tau s}(\pm z)$, $f_{\tau a}(\pm z)$.

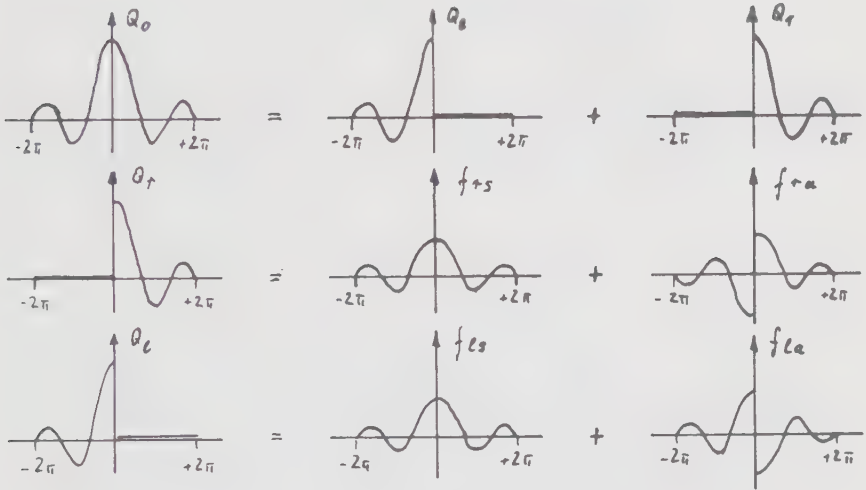


Abb. 26 Graphische Darstellung des Pape - Verfahrens zur Entfaltung

Punkt 2. verdeutlichen wir an der Intensitätsfunktion $I_0(b)$ ohne Gitterfaktor und stellen dazu die Zusammenhänge zwischen den einzelnen Größen her. $g_0(z)$ bedeutet dabei die Funktion der Abb.

$$-\infty \quad \dots \quad +\infty$$

die im Intervall $[-\infty, +\infty]$ erklärt ist.

(8.2')

$$I_c(b) = F_{lc}(b) \cdot H_0'(b)$$

$$\begin{aligned}
 I_0(b) &= \int_{-\infty}^{+\infty} dz \, e^{-2\pi i z b} \rho_0(z) \int_{-\infty}^{+\infty} dz'' \, e^{+2\pi i z'' b} \rho_0(z'') \\
 &= \int_{-\infty}^{+\infty} dz \int_{-\infty}^{+\infty} dz'' \, e^{2\pi i (z'' - z) b} \rho_0(z'') \rho_0(z)
 \end{aligned}$$

Substitution: $z'' - z = z'$, $dz'' = dz'$

$$\begin{aligned}
 I_0(b) &= \int_{-\infty}^{+\infty} dz \int_{-\infty}^{+\infty} dz' \, e^{+2\pi i b z'} \rho_0(z) \rho_0(z+z') \\
 &= \int_{-\infty}^{+\infty} dz' \, e^{2\pi i b z'} \int_{-\infty}^{+\infty} dz \, \rho_0(z) \rho_0(z+z')
 \end{aligned}$$

(8.4)

$$Q_0(z') = \int_{-\infty}^{+\infty} dz \, \rho_0(z) \rho_0(z+z')$$

$$I_0(b) = \int_{-\infty}^{+\infty} dz' \, e^{2\pi i b z'} Q_0(z') = \mathcal{F}^{-1} Q_0$$

Das derart eingeführte Q_0 ist die oben genannte Autokorrelationsfunktion. Sie hat zwei für uns wichtige Eigenschaften:

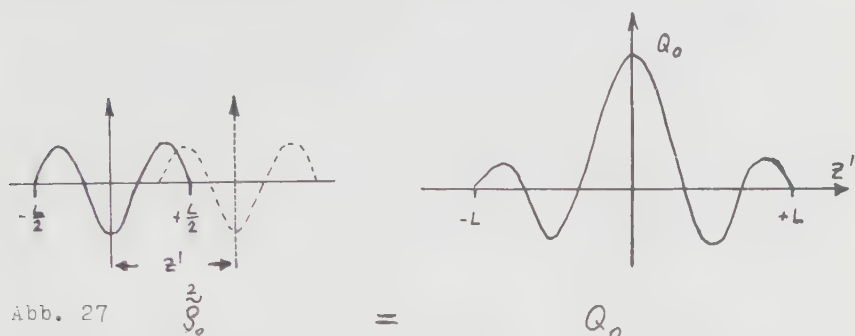
- Q_0 hängt mit der Meßgröße I_0 über eine Fouriertransformation zusammen;
- laut Definition in Gl. (8.4) ist sie das Faltungsquadrat von ρ_0 bzw. das Faltungsprodukt aus $\rho_0(z)$ mit seinem Spiegelbild $\rho_0(-z)$, in Zeichen

$$Q_0 = \int_{-\infty}^{+\infty} \rho_0(z) \rho_0(-z) dz$$

Anschaulich ist Q_0 aus $\rho_0(z)$ gemäß Gl. (8.4) dadurch zu bilden, daß zwei ρ_0 im Abstände z' übereinandergelegt werden und über den Überlappungsbereich nach Multiplikation integriert wird.

Weitere Eigenschaften sind im Bracewell³² ausführlich beschrieben. Wir merken nur an, daß das '+'-Zeichen im Argu-

ment des Integranden der Q_0 -Funktion von der Bildung des Konjugiertkomplexen im Ausdruck (8.2') kommt.



Bei der üblichen Faltung stünde an Stelle des '+' ein '-', weswegen die Faltung eine Spiegelung impliziert.

Wer Q_0 auf eine Faltung zurückführt, muß, weil bei Q_0 nicht gespiegelt wird, S_0 mit seinem Spiegelbild falten.

Wir verknüpfen die beiden oben betonten Eigenschaften a. und b. mit den Ergebnissen des Abschnittes 3.2.

Aus Gl. (8.4) ergibt sich eine Ausdehnung des Q_0 von $2L$, wenn sich ein S_0 über ein Intervall von L erstreckt.

Um Q_0 vollständig zu beschreiben, genügt es, sein Fourier-spektrum q_v zu kennen, aus dem sich eine Fourier-Reihe aufbauen läßt:

$$Q_0(z) = \sum_v^{+\infty} q_v e^{2\pi i z v/2L}$$

Wird z auf $[-L, +L]$ beschränkt, bekommt man ein Muster Q_0 , welches sich bei Ausdehnung des Intervalles periodisch wiederholen würde. Die Fourierkoeffizienten q_v sind gemäß Gl. (3.15) im Abschnitt 3.2 bis auf die gemeinsame Konstante $1/2L$ identisch mit den Intensitätswerten an den äquidistanten Abständen $v/2L$.

$$(8.5) \quad q_v = 1/2L \cdot I_0(v/2L)$$

Gelingt es, I_0 an den Rasterpunkten $\sqrt{2}L$ genau zu messen, ist Q_0 bestimmt.

In Wirklichkeit besteht unser Streuobjekt aber nicht aus einem S_0 , sondern, idealisiert angenommen, aus seiner mit L periodischen Fortsetzung. Für die Intensität bedeutet dies nach Gl. (3.12b), daß $I_0 = |F_0|^2$ mit dem Gitterfaktor $\mathcal{N}^2_{1/L}$ zu multiplizieren ist.

Da ein S_0 von seinem nächsten um L entfernt ist, liegen die Maxima der Intensität bei den Abständen $1/L$, während die Zwischenwerte zurückgedrängt oder unterdrückt werden.

In den Fällen, in denen das Gitter aus S_0 besonders lang ist und in denen sich daher der Gitterfaktor $\mathcal{N}^2_{1/L}$ dem Grenzfall $1_{1/L}$ nähert, wird die Hälfte aller q_0 -Werte unbeobachtbar gemacht, die zum Aufbau der vollständigen Q_0 -Funktion nötig sind.

Dieser Grenzfall ist das Arbeitsgebiet der Kristallografie (die daher gezwungen ist, mit Zusatzmethoden wie isomorphem Ersatz die fehlende Information zu besorgen).

Die sonst nicht zugänglichen $q_0 \sim I_0(\sqrt{2}L)$ wären prinzipiell auch beim periodischen Gitter dadurch zu gewinnen, wenn der Gitterfaktor $1_{1/L}$ auf $1_{1/2L}$ verengt würde, wenn es also gelänge, die S_0 auf gegenseitige Abstände von $2L$ zu quellen, ohne daß sie selbst sich veränderten. (Wir weisen, ohne näher darauf einzugehen, darauf hin, daß der Übergang von



einer besonderen Betrachtung der mittleren Elektronendichte bedarf).

Bei symmetrischen Streuobjekten steckt in der Gestalt der Intensitätsfunktion I_0 die Information über die Phasen,

die prinzipiell wiedergewonnen werden können.

Bei einer asymmetrischen Elektronendichte wird die Reihe für ϱ_0 unter Gl. (8.3) komplex angesetzt. Im Gleichungssystem, das Pape⁴¹ zur Entfaltung verwendet, s. Anhang 5., entstehen mit $c_k = a_k + i b_k$ Ausdrücke wie

$$c_k c_m^* = a_k a_m + i(a_m b_k - a_k b_m) + b_k b_m.$$

Sie liefern ein System mit unendlich vielen Lösungen.

8.2. Übergang zum realeren Fall

Eine Voraussetzung der Phasengewinnung ist durch die geschlossenen Vesikel gegeben, deren symmetrische Projektion wir durch $\varphi_0(z)$ beschreiben.

Da unser Streusystem aus einem Stapel mehrerer φ_0 besteht, ist der Strukturfaktor I_0 mit einem Gitterfaktor $\mathcal{M}^2_{1/L}$ zu multiplizieren, Gl. (3.12a). Damit geht, wie Abschnitt 8.1 ergeben hat und Abb. 8 auch zeigt, die eine Hälfte der Anzahl der Fourierkoeffizienten, wenn die andere von den Bragg-Werten geliefert wird, zur Darstellung von Q_0 praktisch verloren. Um hier weiterzukommen, wird ausgenutzt, daß die peaks des Gitterfaktors bei endlich vielen Elementarzellen eine Breite haben und nicht δ -funktionsförmig sind, eine Eigenschaft, die wir durch die Wahl des Zeichens $\mathcal{M}^2_{1/L}$ ausdrücken im Unterschied zu $|||_{1/L}$, das wir an geeigneter Stelle auch benutzt haben, s. Gl.'n (3.10a) u. (3.10b).

Statt Q_0 aus Rasterwerten der Intensität mit den Fourierkoeffizienten q_0 aufzubauen, werden möglichst breite Umgebungen der Bragg-Werte abgetastet, um die fehlende Information zwischen den Bragg-Werten zu kompensieren. In der Praxis wird die Intensitätsfunktion

$$I = I_0 \cdot \mathcal{M}^2_{1/L}$$

kontinuierlich verwendet.

Im Zusammenhang mit der Breite der Maxima von $\mathcal{M}^2_{1/L}$ erkennen wir den Vorteil, wenn ein Stapel aus einer möglichst geringen Anzahl Elementarzellen besteht.

Ausgangspunkt der Auswertung ist eine zur Intensität I gehörende Q -Funktion. Mit den analogen Umformungen, die zu Gl. (8.4) geführt haben, ergibt die konsequente Anwendung des Faltungssatzes (unter Ausnutzung der Gleichheit von Faltungsquadrat und Faltungsprodukt bei symmetrischen Funktionen wie dem Gitterfaktor) in symbolischer Schreibweise,

$$\begin{aligned}
 &= f^{-1} f(|H_0|^2 \cdot \mathcal{M}_{1/L}^2) \\
 &= f^{-1} \left(\overbrace{f \cdot |H_0|^2}^{\tilde{Q}_0} \cdot \overbrace{f \cdot \mathcal{M}_{1/L}^2}^{\tilde{Q}_L} \right) \\
 &= f^{-1} \left(\tilde{Q}_0 \cdot \tilde{Q}_L \right) \\
 &\quad \tilde{Q}_0 \cdot \tilde{Q}_L = Q \\
 &\quad Q = Q_0 \cdot \tilde{Q}_L = \tilde{Q}
 \end{aligned}$$

Q ist die Fouriertransformation der Intensität $I = I_0 \cdot \mathcal{M}_{1/L}^2$

Sie besteht aus einem Gitteranteil $\tilde{Q}_L$ und einem Elementarzellenanteil $\tilde{Q}_0$, welche beide über eine Faltung verknüpft sind.

Der Gitteranteil liefert schon anschaulich eine Gitterstufenfunktion

$$\tilde{Q}_L = |||_L$$

Bei seiner Faltung mit $\tilde{Q}_0$ reproduziert jeder Strich die Q_0 -Funktion, multipliziert mit der Höhe des Striches, also in unserem Fall mit den Faktoren 3, 2, 1.

Da Q_0 die Ausdehnung $2L$ hat, ihre Reproduktion aber im Abstände L stattfindet, überlagern sich die gewichteten Q_0 -Funktionen jeweils zur Hälfte und ergeben addiert Q .

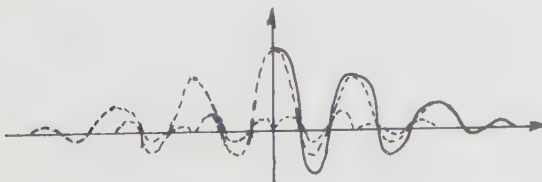
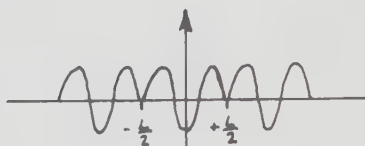


Abb. 28
Q - Funktion

Gehen wir z.B. von einem Stapel aus drei $\mathcal{S}_0$ aus,



und schieben ihn über sich selbst, dann kommt die Überlappung der Q_0 dadurch zustande, daß die $\mathcal{S}_0$ im Abstände L dicht liegen.

Die einzelnen $Q_0 = \sum \mathcal{S}_0$ würden demnach isoliert zu gewinnen sein, wenn durch Quellen zwischen den $\mathcal{S}_0$ ein Platz der Länge L geschaffen werden könnte, den wir, s. Abb. 10, durch Nullen auffüllen dürften.

In Abb. 28 zeigt nur die äußerste Flanke von Q das gewünschte Q_0 isoliert und zwar mit dem niedrigsten Verstärkungsfaktor, also auch am ungenauesten. Wenn aber die realen Verhältnisse so sind wie in Abb. 28, kann man an die genaueren Werte der höchsten Q_0 -Funktion in der Mitte durch sukzessives Entspiegeln um die Zinken der Gitterstufenfunktion herankommen.

8.2.1. Zusammenhang zwischen der Q-Funktion und dem sample-Theorem³²

Wir denken uns $|H_0|^2$ kontinuierlich im Intervall $[-\infty, +\infty]$ ausgedehnt. Ihre Fouriertransformation sei wie bisher Q_0 mit der Ausdehnung $2L$.

$|H_0|^2$ werde mit einem unendlich ausgedehnten Kamm $|||_{1/D}$ multipliziert und anschließend fouriertransformiert.

Im Q -Raum ist dies einer Faltung von Q_0 mit $|||_D$ äquivalent. Für D nehmen wir drei Fälle an und entsprechend für die Faltung $Q = \widehat{Q_0 |||_D}$

a) $D > 2L$, $1/D < 1/2L$

Die Rasterung ist zu fein:

die Q_0 -Funktionen werden in Abständen $> 2L$ reproduziert entsprechend Abb. 11.2, wenn dort δ_2 durch Q_0 ersetzt würde.

b) $D = 2L$, $1/D = 1/2L$

Die Q_0 -Funktionen werden in Abständen $2L$ reproduziert entsprechend Abb. 11.1, also überlappungsfrei und aneinanderstoßend; diese Darstellung entspricht der ausgedehnten Fourierreihenentwicklung von Q_0 mit der Periode $2L$.

Die Rasterung in $|H_0|^2$ ist optimal gewählt: so wenig Punkte wie möglich und so viel wie nötig werden abgegriffen. Ein einzelnes Q_0 kann durch Multiplikation der ∞ Periode Q mit der Funktion $\sqcap_{2L}$ isoliert werden. Dieser Multiplikation entspricht im $|H_0|^2$ -Raum eine Faltung der im Abstände $1/2L$ gerasterten Werte mit $\mathcal{F} * \sqcap_{2L}$, s. Abschnitt 3.3.

Vermöge dieser Faltung werden die diskreten $|H_0|^2$ -Werte zu einer kontinuierlichen I_0 -Funktion zusammengekehrt (sample-Theorem).

c) $D < 2L$, $1/D > 1/2L$

Die Rasterung ist zu grob:

die Q_0 -Funktionen werden in Abständen $< 2L$ reproduziert und überlappen sich; deswegen führt diese zu grobe Rasterung zum Informationsverlust. Da bei uns die Rasterung wegen der Bragg-Werte entsprechend der Periode der ρ_0 um den Faktor 2 zu grob ist, überlappen sich die einzelnen Q_0 gerade zur Hälfte entsprechend Abb. 28.

(Der unendlich ausgedehnte Kamm $|||_D$ entspricht unserer Gitterstufenfunktion $|||_L$, bei dem nur wegen der ∞ vielen Zinken die Höhen der einzelnen zu einem gleich großen Wert nivelliert ist).

8.3. Die Auswertung des realeren Falles nach Welte¹² und Hodapp⁴⁴

Die Gewinnung der Q_0 -Funktion stößt dann auf Schwierigkeiten, wenn die Entspiegelungspunkte bei gestörten Gittern nicht genau definiert sind oder die Q -Funktion aus zu vielen Q_0 besteht und zu langsam abklingt.

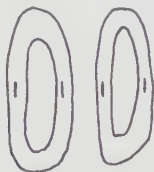
Eine lange oszillierende Q -Funktion hebt die Vorteile, die die auf kurze Stapel konzipierte Q -Funktionsmethode birgt, nahezu auf und zwar in der Weise, daß sie, was Jaenecke⁴⁵ bei seiner Auswertung wohlgeordneter Lipide gezeigt hat, die symmetrischen Anteile gegenüber den antimetrischen unserer in Kap. (8.1) asymmetrisierten Q_0 -Funktion bevorzugt. Die antimetrischen Anteile liefern aber gerade die Vorzeichen für die Q_0 -Reihenentwicklung.

Im Anschluß an Bild 9b und Gl. (3.19) können wir uns die Vorgänge so klar machen:

Die Zusammenkehr-Funktion $L \cdot \sin s/s$ lieferte im H_0 -Raum entweder genau ein C_V oder ∞ viele, je nachdem, ob ihr Maximum mit einem C_V zusammenfiel oder nicht.

Konvergiert $L \cdot \sin s/s$ außerhalb des Maximums zu schnell gegen Null, liefert das Zusammenkehren, also die Linearkombination der C_V , kaum noch Beiträge, und noch weniger tut dies ihre Bilinearkombination bei der Intensitätsbildung. Der spürbare Beitrag der Bilinearkombination ist, fortgesetzt in den Q -Raum, aber bestimmend für die Genauigkeit der Vorzeichen der C_V .

Um aus diesen Schwierigkeiten herauszukommen, haben Welte und Hodapp den Fall zweier Doppelmembranen



$$|e_1| |e_2| |e_1'|$$

Abb. 29

Zwei Doppelmembranen

unter Berücksichtigung schwankender Abstände l_1, l_2, l_1' analysiert.

Die Beschränkung auf nur zwei Doppelmembranen ist zunächst mathematischer Natur. Aber in der Praxis zeigte sich, daß Q-Funktionen biologischer Membranen häufig schon nach der zweiten Oszillation abbrechen.

Dies liegt daran, daß wegen Gitterstörungen kleine Unter-einheiten im großen Stapel für sich kohärent streuende Bereiche bilden oder die einzelnen Vesikel bereits so dick sind, daß wenige von ihnen in die Größenordnung der Kohärenzlänge der Röntgenstrahlen⁴⁶ (1500 Å) kommen oder unsere Meßgenauigkeit nicht ausreicht.

Ausgang ist wieder die eine Q-Funktionshälfte, die beim Überschieben des Profils der Abb. 29 mit sich selbst in einer Richtung erhalten wird. Wird noch ρ_0 in die beiden Hälften ρ_H und $\rho_{H'}$ unterteilt, lautet zunächst eine Darstellung der Doppelmembran

$$\rho = \widehat{\rho_H \delta(z)} + \widehat{\rho_{H'} \delta(z-l_1)} + \widehat{\rho_H \delta(z-l_1-l_2)} + \widehat{\rho_{H'} \delta(z-l_1-l_2-l_1')}$$

Dann heißt die Q-Funktion (unter Beachtung, daß in der Faltungssymbolik $\widehat{\quad}$ gespiegelt wird):

$$\begin{aligned} Q(z) = & 4 \widehat{\rho_H} + \widehat{\rho_{H'} \rho_{H'}} \widehat{\delta(z-l_1)} + \widehat{\rho_{H'} \rho_{H'}} \widehat{\delta(z-l_1')} \\ & + \widehat{\rho_H \rho_H} \widehat{\delta(z-l_2)} + \widehat{\rho_H} \widehat{\delta(z-l_1-l_2)} \\ & + \widehat{\rho_H} \widehat{\delta(z-l_2-l_1')} + \widehat{\rho_{H'} \rho_{H'}} \widehat{\delta(z-l_1-l_2-l_1')} \end{aligned}$$

Sie enthält sieben Summanden entsprechend der sieben vorkommenden Abstände.

Mittelung über die Abstände führt zu Statistikfunktionen, die bei ihrer Unabhängigkeit als Faltungen über die Einzelstatistiken eingehen, gemäß

$$\frac{1}{N} \sum_i \delta(z-l_i) = H_i$$

Wir erhalten

$$Q = 4 \sum_H^2 + 2 \overbrace{\sum_{H'} \sum_{H'} H_1} + \overbrace{\sum_H \sum_H H_2} \\ + 2 \overbrace{\sum_H^2 H_1 H_2} + \overbrace{\sum_{H'} \sum_{H'} H_1 H_2 H_1}$$

Die vor den einzelnen Summanden stehenden Gewichtungsfaktoren 4,2,1,2,1 gelten nur für zwei Doppelmembranen. Kommen die kleineren Versionen zwischen einer und drei Einzelmembranen auch noch vor, sind allgemeinere Gewichtungsfaktoren zu verwenden, welche im Hodapp'schen Programm auch Berücksichtigung finden.

Einsetzen einer Fourier-Reihe für die Einfachmembran ρ_H , Annahme von Gaußfunktionen für die Statistiken und Berechnen der Integrale über eine Hälfte von Q liefert ein nicht-lineares Gleichungssystem zwischen den Parametern (s. Hodapp s. 39 ff).

Für dessen Lösung haben Hodapp und Welte nach Marquardt⁴⁷, der zum Verfahren der kleinsten Fehlerquadrate die Tangenten- und Gradientenmethode zur Verknüpfung der schnellen mit der sicheren Konvergenz kombiniert, ein Programm entwickelt, das wir für die Auswertung unserer Meßkurven verwenden. Eine Modelldichte wird eingelesen, und das Programm variiert die Parameter in Richtung einer besseren Anpassung.

8.4. Die Auswertung der Stapelreflexe

8.4.1. Erste Auswertung

Zur Berechnung der Elektronendichte aus den Stapelreflexen kommen nur solche Aufnahmen in Frage, deren zu verschiedenen Systemen gehörende Reflexe separierbar sind und während der langen Belichtungszeit möglichst ihre Lage nicht ändern.

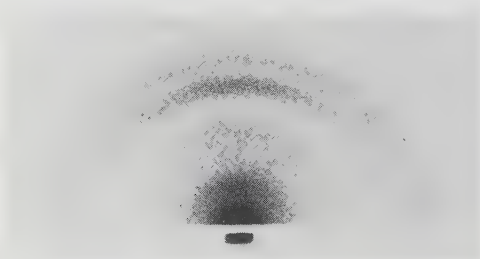


Abb. 20a
Kratky - Aufnahme
isolierter Sechstäbchen
in Suspension

Abb. 20a zeigt den seltenen Umstand, daß auf einer Aufnahme die Schwärzungswerte aller Reflexe im Linearitätsbereich des Films liegen, so daß das Problem, mehrere Aufnahmen unterschiedlicher Dauer zu verwenden, entfällt.

Durch die Densitometerkurve, Abb. 30a, wird eine mittlere Kurve gezogen, Abb. 30b, die der Auswertung zu Grunde liegt. Offensichtlich sind die Reflexe nicht äquidistant und können auch nicht, was in Kap. 6. untermauert worden ist, alle dem Stapel zugeordnet werden. Zur Isolierung der Stapelreflexe nehmen wir zunächst an, daß jeder Reflex in der Umgebung seines Maximums durch eine Gaußkurve hinreichend gut beschrieben wird, und machen dann von der gesamten Kurve eine Gaußanalyse, Abb. 31.

Ein besonderes Problem ist dabei die Untergrundstreuung. Der Gesamtuntergrund, verursacht z.B. durch Vakuumfolien oder Luft außerhalb des Präparates und kleine, inkohärent streuende Teilchen innerhalb des Präparates, wird bestimmt durch die Schwärzung in einem weiten Bereich oberhalb des letzten, registrierbaren Reflexes. Damit ist die Nulllinie

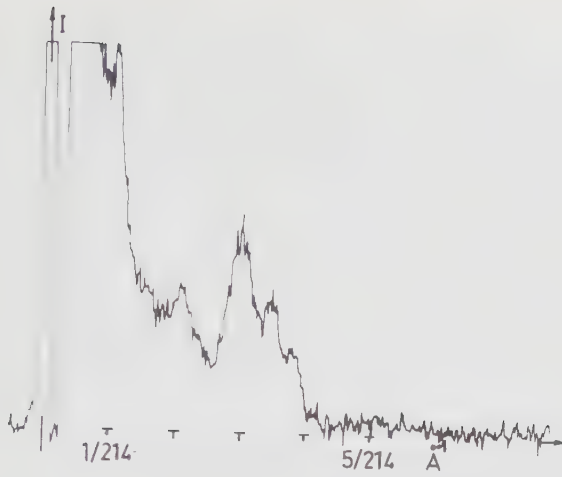


Abb. 30a Densitometerkurve zu Abb. 20a

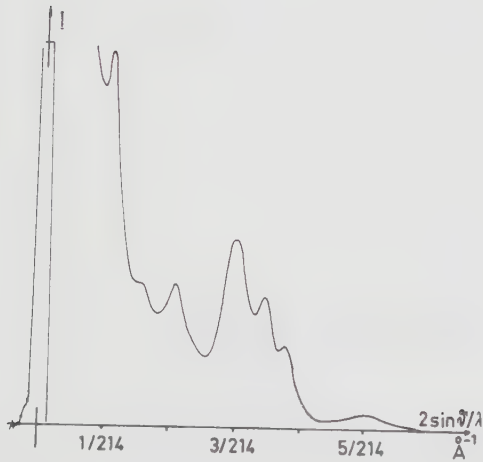


Abb. 30b Ausgleichskurve zu Abb. 20a

der Intensitätskurve festgelegt. Als nächstes wird die kontinuierliche Streuung in der Umgebung des Primärstrahles untersucht. Wenn wie in Abb. 30 die Intensität zwischen der letzten und vorletzten Ordnung noch nahezu auf Null geht, bedeutet dies für den Gitterfaktor, daß er dort noch trotz Statistik oszilliert und noch nicht gegen einen konstanten Wert konvergiert⁵⁰. Um so sicherer oszilliert er um seinen Ursprung. Für den Nullpeak der Stapelstreuung bedeutet dies, daß er mindestens vor dem ersten halbzahligen Bragg-Wert seinen Nulldurchgang hat. Also muß die erste Ordnung auf einer Fremdstreuung aufgesetzt sein. Dies berechtigt uns dazu, alle die Streuanteile, die von einer genauen Gauß-Anpassung der Reflexe nicht erfaßt werden, abziehen, insbesondere auch die kontinuierliche Streuung, und Asymmetrien im Intensitätsverlauf, die durch separat nicht meßbare Reflexe verursacht werden. (Der vorwegzunehmende Gaußfit gelingt mit dem bereits erwähnten Marquardt-Programm⁴⁷, das Hodapp für die Kurvenanpassung umgeschrieben hat).

Die Gaußanalyse liefert neben den Stapelreflexen auch noch

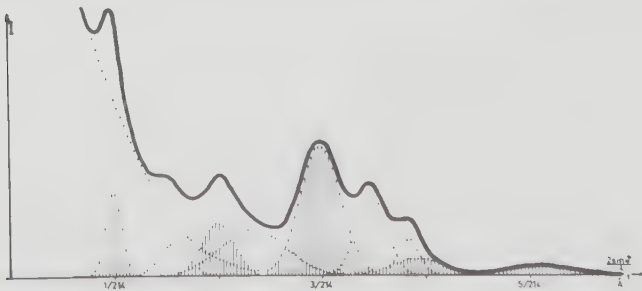


Abb. 31
Gaussanalyse
zu Abb. 30b

Reflexe mit $1/139$, $1/95$, $1/67$ und $1/57$ Å .

Der Erstgenannte ist auf Abb. 24 noch deutlicher zu sehen; die beiden mittleren sind aus Kap. 6. bekannt; den letzten mag man für einen Auswertartefakt halten, wir verweisen

aber auf die Abb. 17, wo er ebenfalls beobachtet wird; er ist eventuell ein Anzeichen für Denaturierungen.

Dadurch, daß die Isolierung der Stapelreflexe auch die Reflexe freigelegt hat, die wir unter anderen Bedingungen deutlicher gemessen haben, nehmen wir an, daß die Analyse genau ist.

Bei der Fülle der Parameter kann es passieren, daß mehrere Gaußfits in Frage kommen. In so einem Fall müssen alle Lösungen diskutiert werden. Dies betrifft insbesondere die beim Streuwinkel 0 beginnende Untergrundstreuung.

Eine Blindaufnahme ohne Stäbchen, die Fremdstreuung ergeben sollte und abzuziehen wäre, liefert in der gleichen Belichtungszeit noch keine Intensität. Der bis zur dritten Ordnung reichende Untergrundanteil stammt vermutlich von Membranfetzen, einzelnen Molekülen oder ungeordneten Membranen, deren Anteil von Versuch zu Versuch verschieden sein wird.

Die dergestalt isolierten Stapelreflexe werden mit dem zwar nicht vollends befriedigenden, aber im Abschnitt 7. begründeten und im Rahmen unserer Meßgenauigkeit wohl auch ausreichenden Lorentzfaktor b^2 multipliziert, Abb. 32.

($b = \text{const} \cdot 2 \sin \vartheta / \lambda$, const für eine beliebige Normierung). Wir setzen also voraus, daß die durch die Ausdehnungen der Vesikel und den Gitterfaktor eingeengten Intensitätswölken hinreichend klein sind.

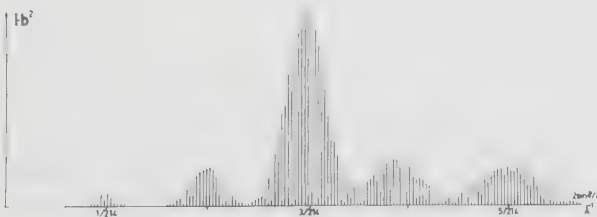


Abb. 32 Isolierte Stapelreflexe, lorentzkorrigiert

Diese Kurve gibt die Intensität wieder, die in den theoretischen Teilen mit $I(b)$ bezeichnet worden ist. Deren Fouriertransformation, die Q-Funktion, zeigt Abb. 33. Ihre zweite Periode beginnt beim reziproken Bragg-Wert $214 \text{ \AA}^{-1}$ und klingt dann ab. Wir machen hier die Näherung, sie vom Zeichen $\equiv 0$ an identisch Null zu setzen, das heißt für das Anpassen der Modell-Q-Funktion an die vorgegebene, wir verzichten auf eine genaue Anpassung an den Auslaufteil.

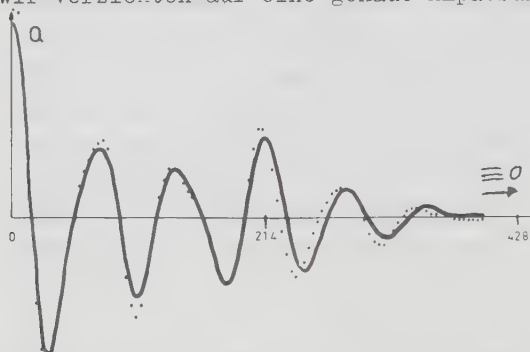


Abb. 33

Synthese der Modell-Q-Funktion...
u. ihr Vergleich
mit der Eingangs-Q-Funktion

Als Startdichte für das Suchprogramm geben wir eine symmetrische Einzelmembran vor, wie sie bei aus Lipiddoppelschichten gefolgerten Membranmodellen bevorzugt werden¹⁰.



Abb. 34
Startdichte

Trotz vielfacher Anstrengungen im Dialogbetrieb mit dem Computer ist es nicht möglich, eine symmetrische Lösung festzuhalten. Statt dessen bekommen wir als beste Lösung einer Doppelmembran eine asymmetrische Elektronendichteverteilung für die Einzelmembran.

Die Rückrechnung, also die Q-Funktion, die der gefundenen Elektronendichte mit Statistiken entspricht, ist in Abb. 33

punktiert wiedergegeben. Die Übereinstimmung ist nicht genau, aber noch befriedigend für eine qualitative Interpretation des Elektronendichteprofiles.

Elektronendichte einer Doppelmembran

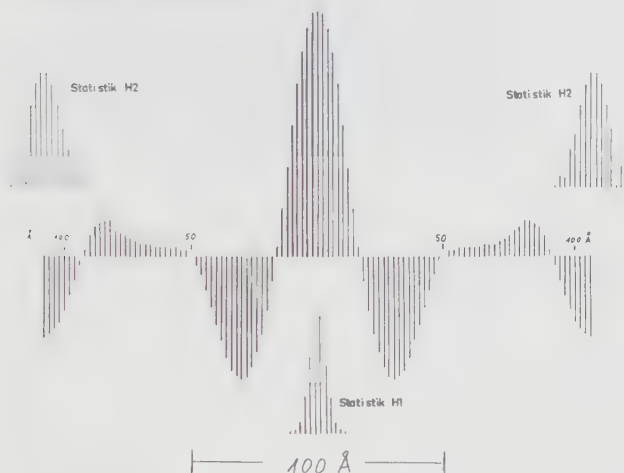


Abb. 35
Errechnete
Modelllichte

Bevor wir die gefundene Lösung diskutieren, zeigen wir noch knapp den Auswertegang einer anderen Messung.

8.4.2. Zweite Auswertung

Erschwerend kommen in diesem Fall die großen Unterschiede in den Intensitätsverteilungen der einzelnen Reflexe hinzu, sodaß drei Aufnahmen von 5, 12 und 25 Stunden herangezogen werden müssen, um eine auswertbare Intensitätsfunktion zu gewinnen.

Abb. 20b zeigt die am längsten belichtete Aufnahme, Abb. 36 die mittlere der drei Densitometerkurven.

Die Densitometrierrichtung ist noch gerinfügig unterhalb des Maximums der Stapelreflexe ($1/238 \text{ Å}^{-1}$) gewählt worden, um möglichst außerhalb des Einflusses des intensiven Störreflexes ($1/88.5 \text{ Å}^{-1}$) zu gelangen, der dort gegenüber seiner Hauptschwärzung schon stark abgeschwächt ist. Da der 44-er Reflex nach Aussehen und Orientierung offenbar die

zugehörige zweite Ordnung ist, gegenüber der ersten aber deutlich schwächer ist, also an der Densitometrierstelle vernachlässigt werden kann, interpretieren wir die bei $1/44 \text{ \AA}$ densitometrierte Intensität als 5. Ordnung.

Die drei Ausgleichskurven durch die Densitometerkurven, in Abb. 37 übereinandergelegt, zeigen eine ausreichende Stabilität der Stapelreflexe ($1/238 \text{ \AA}^{-1}$) hinsichtlich ihrer Lage und ihrer relativen Höhe von Aufnahme zu Aufnahme, während die übrigen Reflexe, $1/88.5$, $1/60$, $1/44 \text{ \AA}^{-1}$, während der langen Aufnahmezeit sichtlich ihre Lage geändert haben. Da die Ausläufer der Störreflexe, s. Gaußanalyse, nicht über die Maxima ihrer Nachbarn hinausgehen, ist ihre Separation von den Stapelreflexen einfach.

Die halbzahligen Braggwerte sind, wie bei den Eigenschaften des Gitterfaktors (Kap. 3.2.2.2.) nicht anders zu erwarten, ungenau, d.h. es existiert kein gemeinsamer Faktor, der die halbzahligen Braggwerte der einen Aufnahme in die einer anderen Aufnahme überführt. Wir nehmen einen mittleren aus den drei Aufnahmen.

Wegen der Stabilität der Braggwerte selbst und ihrer näheren Umgebungen sind wir berechtigt, aus den drei Intensitätskurven eine gemeinsame zu erstellen, Abb. 38.

Der übrige Auswertegang gleicht dem oben beschriebenen. Der Gaußanalyse, Abb. 39, entnehmen wir die 1., 2., 3. und 5. Ordnung der Stapelstreuung und korrigieren sie mit dem Lorentzfaktor b^2 . Die anschließende Fouriertransformation liefert die Q-Funktion, Abb. 41.

Die Q-Funktion, deren Periode bei $238 \text{ \AA}$ liegt, klingt erst nach vier Oszillationen ab; da ihre Periode auf $\pm 4 \text{ \AA}$ eingehalten wird, können wir um ihre Vielfachen entspiegeln. Bei einer ersten Entspiegelung gehen wir bis auf $238 \text{ \AA}$ heran, also bis zur Isolierung von Q_0 ; bei einer zweiten Entspiegelung hören wir bei $476 \text{ \AA}$ auf, also bei jener Q-Funktion, die zwei Doppelmembranen entspricht. Q_0 wird mit dem Pape'schen Gleichungssystem entfaltet und die so gewonnene $\wp$ -Funktion in das Verfahren von Welte und Hodapp hi-



Abb. 20b

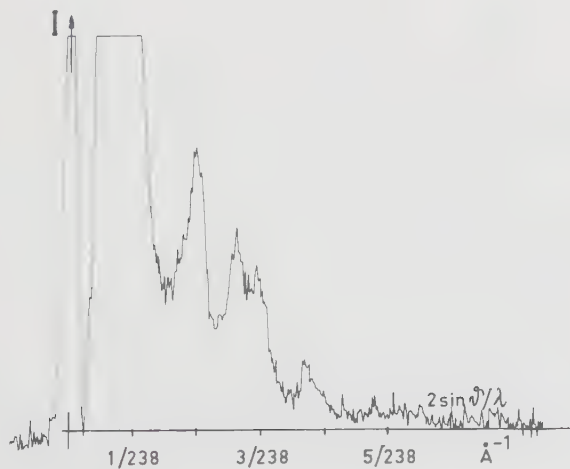


Abb. 36 Densitometerkurve zu Abb. 20b

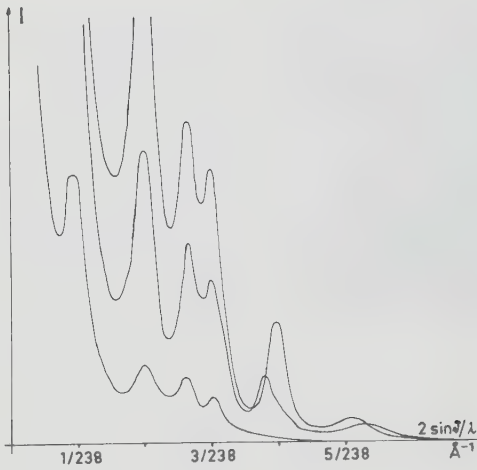


Abb. 37
Ausgleichskurven
einer Belichtungsserie

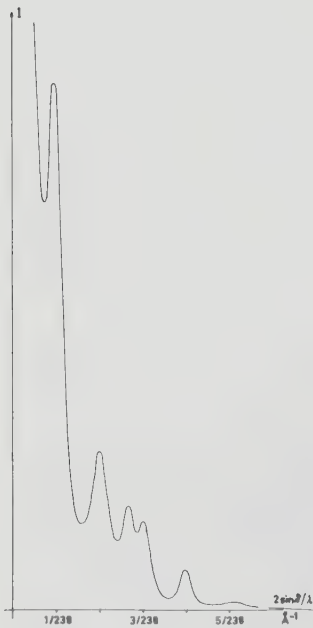


Abb. 38
Aus den Ausgleichskurven
von Abb. 37 zusammenge-
setzte Intensitätskurve

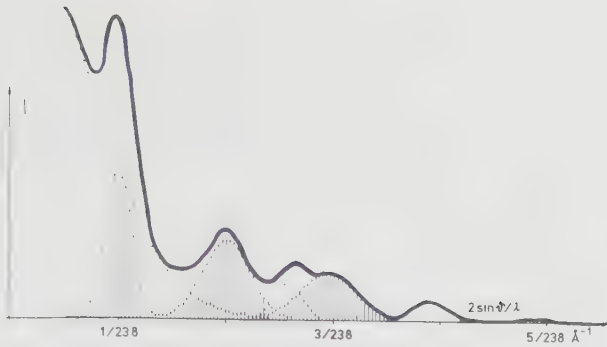


Abb. 39 Gaussanalyse der Intensitätskurve in Abb. 38

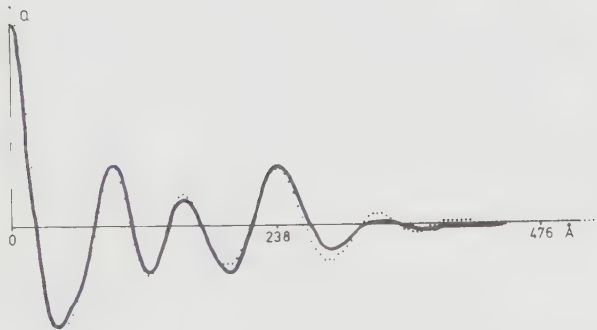


Abb. 40 Q - Funktion aus Abb. 41 nach spiegelsymmetrischer Subtraktion ———
und Rückrechnung - - - - -

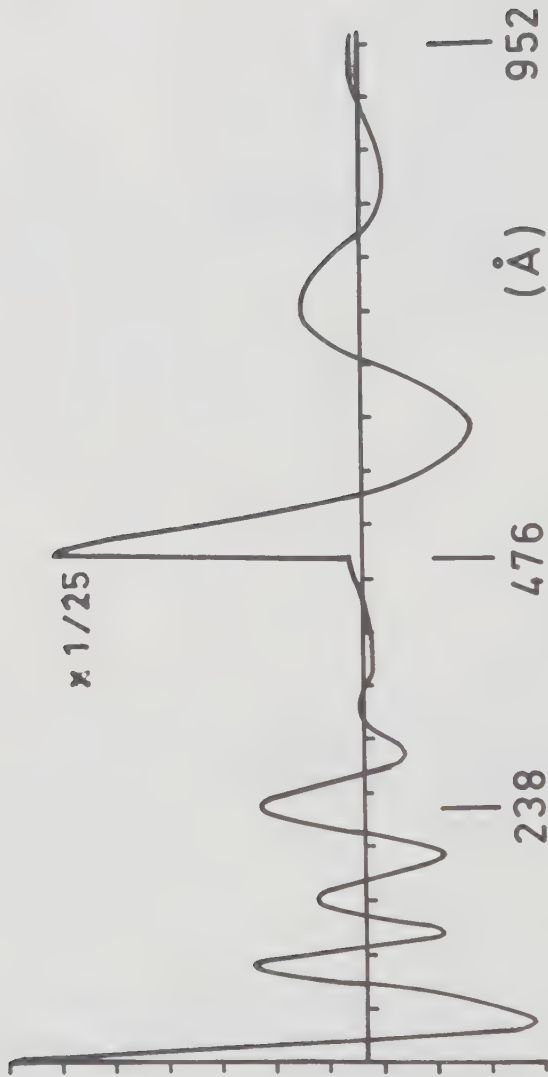


Abb. 41 Fouriertransformation von Abb. 38 (Q - Funktion)

neingesteckt, um eine gute Anfangslösung zu haben. Weitere Lösungen sind durch systematische Phasenänderungen gesucht, aber nicht gefunden worden.

Abb.42 bestätigt die zuerst gefundene Dichte, wobei der größere Bragg-Wert sich in einer dickeren Membran wiederholt. Ihre Zunahme äußert sich in einer Verbreiterung der einen Seite der Einzelmembran. Die Synthese der Q-Funktion aus diesem Ergebnis zeigt die punktierte Linie der Abb. 40. Die Übereinstimmung ist befriedigend und läßt, wie auch in der ersten Auswertung, eine Interpretation der Hauptmerkmale des Dichteprofiles zu.

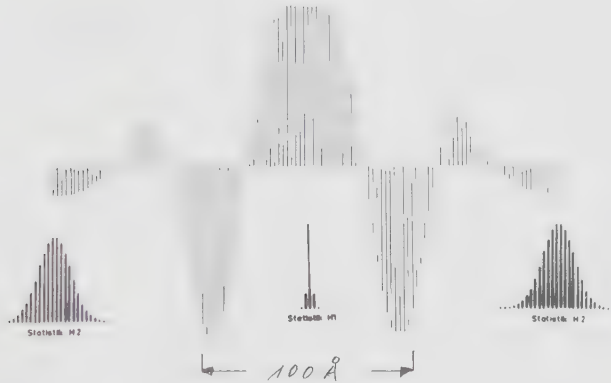


Abb. 42 Errechnete Modelldichte zu Abb. 40

9. Diskussion der Elektronendichteverteilung.

a) Das Auswerteverfahren liefert eine Lösung mit folgenden Merkmalen. Zunächst ist die Nulllinie unbestimmt. Da wir die Streuanteile in der Umgebung des Winkels 0 nicht berücksichtigen, enthält die Reihenentwicklung der Elektronendichte nur $\cos$ -Wellen, aber keine Konstante. Das Profil ist also so genormt, daß sein Integral verschwindet. (Die Kanten am Rande treten nicht mehr auf, wenn wir die Funktion periodisch fortsetzen). Über die wirkliche Nulllinie können wir aus demselben Grunde keine Aussage machen; wir können sie aber so legen, daß die Dichte am Rande gegen Null konvergiert.

Die gesamte Lösung ist nur bis auf ein gemeinsames Vorzeichen definiert, d.h. der von uns in der Mitte angenommene hohe peak dürfte vom Auswerteverfahren her auch ein Minimum sein.

Darüber hinaus sollte noch ein weiteres Lösungspaar in Betracht gezogen werden, das durch Verschieben um eine Membranhälfte hervorgeht, bei der also innen und außen vertauscht sind. Wählten wir in diesem Fall den dominierenden peak als Maximum, könnten wir für die hohe Elektronendichte Salze zwischen den discs verantwortlich machen, die sich mit zunehmendem Eintrocknen um so bemerkbarer machen. Wenngleich unser Röntgenpräparat nach mehreren Tagen trotz Feuchtzufuhr bis zu ca. 60 % an Volumen verlieren kann, stimmen die Reflexe dennoch mit der ersten Kurzaufnahme überein, während der das Präparat in der Feuchtküvette noch flüssig ist. Wir nehmen daher an, daß der hohe peak nicht durch Salze im Interdisc-Raum gedeutet werden darf.

b) Die Schwierigkeiten bei den Intensitätsmessungen, die bei den unvollkommenen Rückrechnungen der Abb. 'n 33 und 40 wieder auftauchen, lassen nicht zu, jede Asymmetrie oder andere Feinheit im gerechneten Elektronendichteprofil zu deuten. Die breite Statistik H2 zwischen zwei Doppelmembra-

nen behaftet den Verlauf der äußeren peaks mit Unsicherheiten. Wir betonen aber, daß zwei verschiedene Intensitätsverteilungen mit anderen Bragg-Werten eine qualitativ gleiche Elektronendichte ergeben.

c) Unser gefundenes Profil stimmt mit den Ergebnissen anderer Autoren⁸⁻¹⁰, welche mit der Startdichte der Abb. 34 vergleichbar sind, nicht überein. Konsequenterweise können wir auch die Interpretation¹⁰, wonach sich durch eine Lipiddoppelschicht Rhodopsin als einziges großes Molekül streckt, nicht nachvollziehen.

Wir deuten unser Ergebnis durch eine asymmetrische Lipid- und asymmetrische Proteinverteilung und legen das Profil so, daß innen eine hohe Elektronendichte vorherrscht. Ihr ordnen wir die polaren Gruppen eines Lipidmonolayers zu. Für diese Interpretation sprechen die glatten Bruchflächen, die Corless et al.⁵¹ mit Gefrierbruchtechnik auf der Innenseite der Froschsehstäbchen gefunden haben. An künstlichen Systemen aus Lipiden und Rhodopsin haben sich nach Hong und Hubbel⁵² auf beiden Seiten raue Flächen ergeben.

In die Senke des Profils fallen die hydrophoben Teile des Lipidmonolayers. Dafür allein ist die Senke aber zu breit. Zusätzlich kann dort noch eines der drei von Siebert et al.¹⁹ gefundenen Proteine gedacht werden, das als hydrophob charakterisiert wird.

Der hohle Innenpeak kann neben den polaren Lipidgruppen zusätzlich noch durch ein Protein angehoben werden. Der lichtgetriggerte Metarhodopsin-I-II-Übergang wird durch eine Änderung des Ionenmilieus und des pH-Wertes in der Innenphase des discs beeinflusst⁵³. Dies legt die Vorstellung nahe, daß das Rhodopsin durch die Membran hindurchreicht und mit einer hydrophilen Gruppe in den Intradisc-Raum reicht, oder, daß ein zweites funktionelles Protein auf der Innenseite lokalisiert ist und mit dem Rhodopsin über die Membran hinweg in Wechselwirkung tritt. Für die letztere Lösung spricht der Befund, daß der Metarhodopsin-Übergang durch Ausfällung einer der in der disc-Membran enthaltenen Proteinfractionen¹⁹ in definierter Weise beeinflusst wird⁵⁴.

10. Beugung an Helices und verwandten Objekten

Zur Deutung der ungeklärten Flächenreflexe sollen auch heli-cale Strukturen herangezogen werden. Die Vielfalt der Reflexe idealer Helices⁵⁵ lehrt sofort, daß die einfachsten Modelle sicherlich nicht in Frage kommen.

Eine Möglichkeit, die Anzahl der Reflexe zu reduzieren, besteht darin, dem Helix-Faden eine endliche Dicke zuzuschreiben.

Als Modell dafür nennen wir das Gewinde⁵⁰. Auch bei Mehrfach-Helices werden Reflexe gelöscht. Wir werden dann noch beliebige Schwankungen der Elektronendichte zulassen, die wir mit cos-Wellen beschreiben. Von da werden wir zum Grenzfall der aus äquidistanten Punkten bestehenden Helix übergehen.

Dies Modell ist besonders für einfache Laserbeugung geeignet, so daß die Mathematik anschaulich überprüfbar wird.

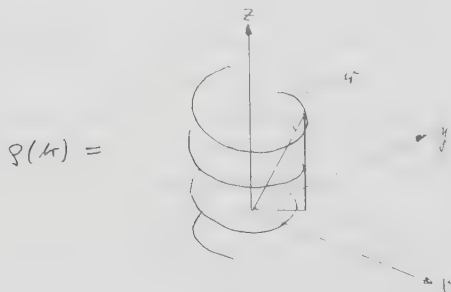
Auch die Kombination unter den eben genannten Modellen würde die Flächenreflexe nicht überzeugend verständlich machen.

Daher begnügen wir uns damit, einige Grundzüge der Beugung an Helices zu erläutern.

10.1. Die kontinuierliche Helix⁵⁵

Als Basis für die Diskussion diene die ∞ lange, kontinuierliche Helix konstanter Dichte, die wir uns zunächst als dünnen Faden

(10.1)



vorstellen, wobei der Ortsvektor r

$$(10.2) \quad r = (x, y, z) = (r \cos \varphi, r \sin \varphi, \frac{c}{2\pi} \varphi)$$

den Verlauf der Helix nachzeichnet; r ist ihr Radius und c ihre Ganghöhe, die nach einem Umlauf von $\varphi = 2\pi$ erreicht wird.

Ihre Fouriertransformation ist in ⁵⁵ durchgeführt worden. Da wir für die Diskussion Einzelheiten aus der Herleitung benötigen, ziehen wir eine Wiederholung einem bloßen Zitat vor.

Die Fraunhofer'sche Beugung an der Helix kommt definitionsgemäß dadurch zustande, daß analog zu Kap. 2. jedem Linienelement dl ein Phasenglied $e^{i\varphi}$ zugeordnet wird, welches gegebenenfalls mit einer Funktion, die eine schwankende Elektronendichte beschreibt, zu multiplizieren ist, und daß anschließend über die Ausdehnung der Helix, hier also längs ihres Fadens, integriert wird.

Das Linienelement lautet

$$(10.3) \quad d|r| = d\sqrt{r \cdot r} = \sqrt{r^2 + \left(\frac{c}{2\pi}\right)^2} d\varphi \sim d\varphi$$

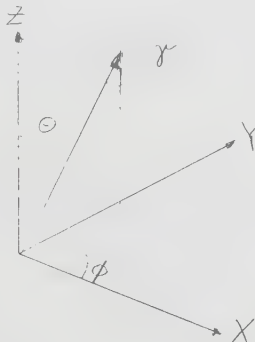
Die konstante Wurzel werden wir weglassen.

Zur Berechnung des Phasengliedes bei der Fouriertransformation,

$$(10.4) \quad e^{i\varphi} = e^{2\pi i r \gamma}$$

wählen wir für den Vektor γ im Fourier-Raum ebenfalls die dem Problem angepaßten Zylinderkoordinaten.

$$(10.5) \quad \gamma = (X, Y, Z) = (R \cos \phi, R \sin \phi, Z)$$



Vereinbaren wir, daß die beiden Koordinatensysteme (x, y, z) und (X, Y, Z) zueinander parallel sind, dann läßt sich das Skalarprodukt mit $\cos(\varphi - \phi) = \cos \varphi \cos \phi + \sin \varphi \sin \phi$ als

$$(10.6) \quad r \cdot r = r R \cos(\varphi - \phi) + \frac{c}{2\pi} \varphi Z$$

schreiben.

Ist die Elektronendichte eine Konstante, erhalten wir für die Beugungsamplitude

$$(10.7) \quad f \cdot g(r) = F(R, \phi, Z) = \int_{-\infty}^{+\infty} e^{2\pi i r R \cos(\varphi - \phi) + i c \varphi Z} d\varphi$$

Bei der Integration von $[-\infty, +\infty]$ machen wir davon Gebrauch, daß der Integrand eine in φ periodische Funktion ist und stellen die unendliche Helix als 3-dimensionale Faltung einer Windung g_M mit einer unendlichen Punktreihe der Gitterkonstanten c dar.

In Zeichen:

$$(10.8) \quad g(r) = \underbrace{\left(\begin{array}{c} \bigcirc \\ \bigcirc \\ \bigcirc \\ \bigcirc \end{array} \right)}_{\text{Helix}} = \left(\begin{array}{c} \bigcirc \\ \vdots \\ \bigcirc \end{array} \right) \quad \text{Punktreihe}$$

In Formeln:

$$(10.8) \quad g(r) = g_M \left[\left(\sum_n \delta(z - n c) \right) \cdot f(x) f(y) \right]$$

Jeder Punkt reproduziert eine Windung, und alle Punkte erzeugen die ganze Helix.

In dieser Darstellung lautet die Fouriertransformation mit dem Faltungssatz (Anhang 3.)

in Zeichen:

$$(10.9) \quad f \cdot \underbrace{\left(\begin{array}{c} \bigcirc \\ \bigcirc \\ \bigcirc \\ \bigcirc \end{array} \right)}_{\text{Helix}} = (f \cdot \left(\begin{array}{c} \bigcirc \\ \bigcirc \\ \bigcirc \\ \bigcirc \end{array} \right)) \cdot \left(\begin{array}{c} \vdots \\ \vdots \\ \vdots \\ \vdots \end{array} \right) = (f \cdot \left(\begin{array}{c} \bigcirc \\ \bigcirc \\ \bigcirc \\ \bigcirc \end{array} \right)) \cdot \underbrace{\left(\begin{array}{c} \text{---} \\ \text{---} \\ \text{---} \\ \text{---} \end{array} \right)}_{\text{Punktreihe}}$$

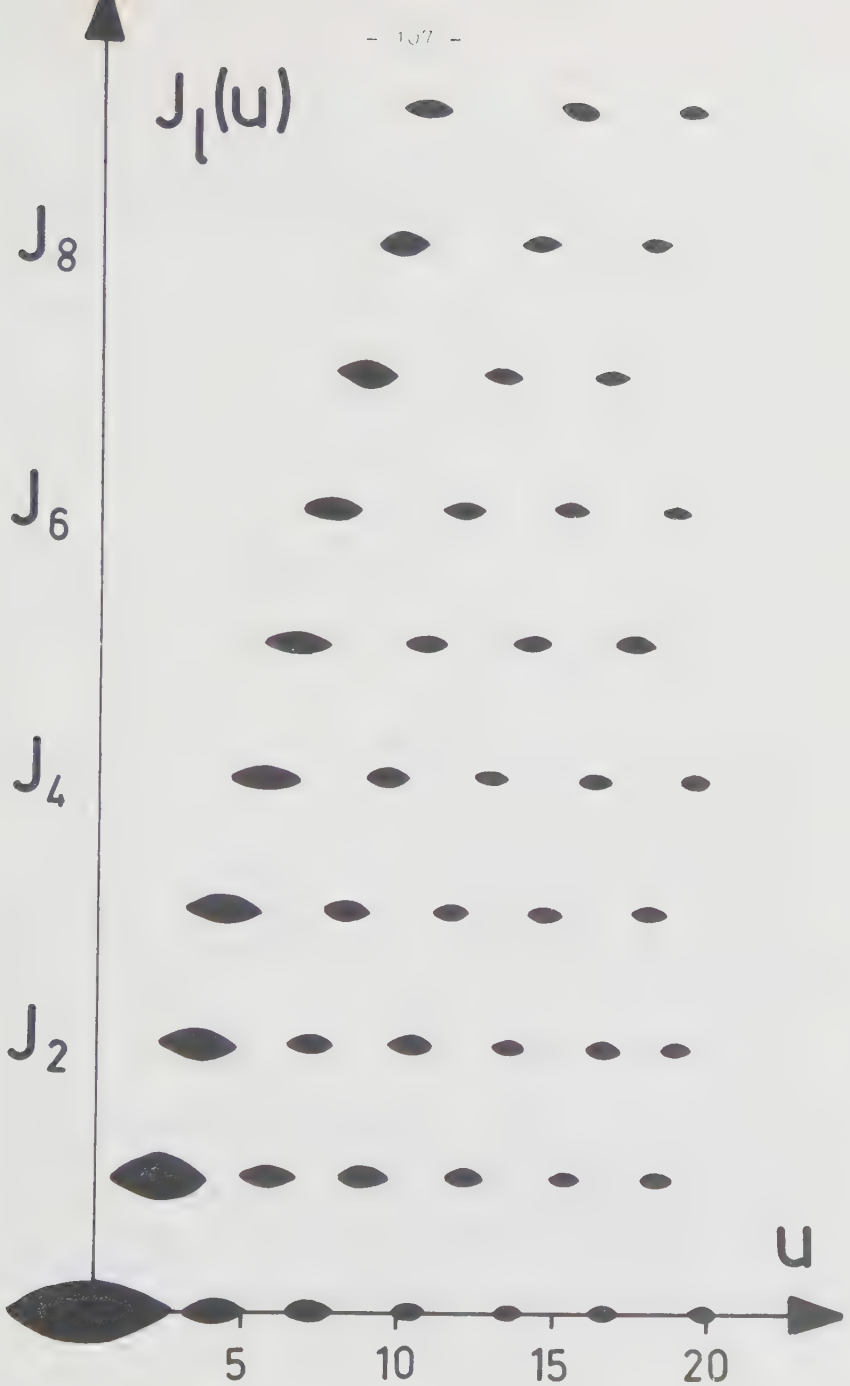


Abb. 43 Betragsquadrate der Besselfunktionen

in Formeln:

$$(10.9) \quad F_{\rho} = F_{\rho_M} \cdot F\left(\sum_n \delta(z - n c)\right) \cdot F\delta(x) \cdot F\delta(y) \\ = F_{\rho_M} \cdot \sum_n \delta\left(z - \frac{n}{c}\right) \cdot 1(X) \cdot 1(Y)$$

Aus der Punktreihe wird ein lineares Gitter unendlich ausgedehnter Ebenen mit gegenseitigen Abständen $1/c$, die aus der kontinuierlichen Fouriertransformierten $F \in$ einer Windung diskrete Ebenen herausmultiplizieren.

Damit haben wir zweierlei erreicht:

1. die Integration in 10.7 braucht nur über eine Windung, also für $\varphi \in [0, 2\pi]$, durchgeführt zu werden;
2. die reziproke Koordinate Z kann nur die diskreten Werte $Z_{\ell} = \ell/c$ annehmen.

Damit wird aus der Gl. (10.7)

$$(10.10) \quad F_{\ell}(R, \phi, \frac{\ell}{c}) = \int_0^{2\pi} e^{2\pi i r R \cos(\varphi - \phi) + i \ell \varphi} d\varphi$$

Substituieren wir noch $\varphi \rightarrow \varphi + \phi$, wird aus Gl. (10.10) bis auf einen Phasenfaktor $e^{i \ell \phi}$ gerade eine integrale Definition der l -ten Bessel-Funktion (s. mathem. Anhang) mit ganzzahligem Index l :

$$(10.11) \quad F_{\ell}(R, \phi, \frac{\ell}{c}) = e^{i \ell \phi} \cdot i^{\ell} \cdot J_{\ell}(2\pi r R)$$

Die Fouriertransformation einer unendlich langen Helix konstanter Dichte und der Ganghöhe c ist ein System von Ebenen mit gegenseitigem Abstand $1/c$, in dessen l -ter Ebene eine Bessel-Funktion J_{ℓ} definiert ist, die mit einem Phasenglied zusätzlich oszilliert. Bei der Betragsbildung bleibt J_{ℓ}^2 übrig, dessen Minima und Maxima Ringe bilden.

Sind die Abstände, nach denen die einzelnen Betragsquadrate der Bessel-Funktionen der Abb. 43 aufeinander gezeichnet sind, ein Maß für $1/c$, brauchen wir die Abb. nur auf alle vier Quadranten fortzusetzen, um das eben hergeleitete Beugungsbild zu bekommen.

Wir symbolisieren es durch



und nennen es Helix-Kreuz.

Diskussion:

Zunächst lesen wir zwei Reziprozitätsgesetze ab:

1.)

$$\kappa \sim \frac{1}{\tau}$$

wegen des multiplikativen Zusammenhanges im Argument der Bessel-Funktionen.

2.) Je kleiner die Ganghöhe, desto weiter rücken die Ebenen im Fourier-Raum auseinander, bis im Grenzfall die 0-te Ebene mit γ_0 übrigbleibt: ein Kreis wird längs seiner Ebene durchstrahlt (s. Anhang 1.a).

Wegen der Zylindersymmetrie bilden die Maxima und Minima der Bessel-Funktionen Ringe um die Z-Achse in den diskreten Ebenen.

Bei endlichen Helices werden die Ebenen noch mit $\frac{\sin \gamma L z}{z}$ gefaltet (L = Gesamtlänge). Ist L sehr groß, werden die einzelnen Ebenen nur vom Hauptmaximum des $\sin z/z$ aufgeweitet. Ist L klein und sind dementsprechend die Nebenminima und -maxima nicht vernachlässigbar klein, werden alle Ebenen, insbesondere benachbarte, miteinander vermischt (s. Kap. 3.2.1).

Im Experiment überstreicht der Streuvektor vom gesamten Fou-

rier-Raum nur die Ewald-Kugel, die wir wieder als Ebene nähern. Denken wir uns die Einfallsrichtung mit der x-Achse zusammenfallend, also senkrecht zur Helix-Achse, bewegt sich der Streuvektor γ nur in der Y,Z-Ebene. Die Streuamplitude hat nur dort endliche Werte, wo die Ringe die Ewald-Kugel durchstoßen.

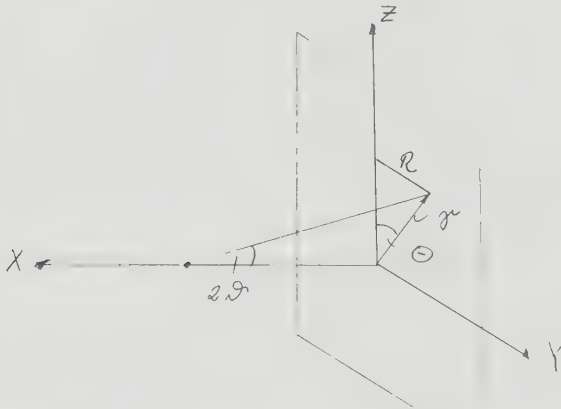


Abb. 44. Ewald-Ebene mit Kugelkoordinaten

Nach wie vor gilt

$$|\gamma| = 2 \sin \vartheta / \lambda$$

wobei 2ϑ der Winkel zwischen dem einfallenden Wellenvektor k_0 und dem gestreuten k ist.

Der Abb. 44 entnehmen wir

$$(10.12) \quad R = |\gamma| \cdot \sin \vartheta = 2 \sin \vartheta / \lambda \cdot \sin \vartheta$$

$$(10.13a) \quad l_c = z = |\gamma| \cdot \cos \vartheta = 2 \sin \vartheta / \lambda \cdot \cos \vartheta$$

Aus (10.13a) finden wir unmittelbar die Ganghöhe c .
Erweitern von Gl. (10.12) mit $2\pi r$ ergibt das Argument u der Bessel-Funktion.

Ist u_{kl} das k -te Maximum oder Minimum in der l -ten Ebene ,
finden wir

$$(10.13b) \quad u_{kl} = \frac{2 \sin \gamma(k,l)}{\lambda} \sin \phi(k,l) 2\pi r$$

zur Bestimmung von r .

Division der Gl'n (10.12) und (10.13a) ergibt

$$\frac{R \cdot C}{\lambda} = \tan \phi$$

Daraus wird, wenn wir für den Quotienten aus Ganghöhe und
Radius der Helix $\tan \phi = \frac{r}{R}$ setzen,

$$(10.14) \quad r R = \lambda \tan \phi \tan \phi$$

für die Radien im Orts- und Fourier-Raum.

In der Ewald-Ebene, in Abb.44 die Z,Y -Ebene, als einem Schnitt
durch den Fourier-Raum sammelt sich die Information, die der
Projektion der Helix auf ihre z,y -Ebene entspricht.
Dieser Fall wird im Kap. 10.2 extra behandelt.

Drehen wir die Helix so weit, daß ihre Längsachse mit der
Einfallstrichtung übereinstimmt, sieht der Röntgenstrahl einen
Kreis. Entsprechend wird die Fouriertransformierte ebenfalls
so weit gedreht, daß die Z -Achse in die X -Achse übergeht.
Alle Ebenen bis auf die 0 -te liegen außerhalb der Ewald-Ebene.
Die Streuamplitude ist die nun in der Ewald-Ebene liegende
Bessel-Funktion J_0 entsprechend dem Beugungsbild eines Kreises,
der senkrecht zu seiner Ebene durchstrahlt wird (s. Anhang.1.a),
ganz in Übereinstimmung des Zusammenhanges zwischen Schnitt
und Projektion bei Fouriertransformierten (s. Kap.3.1).

10.2. Die Fouriertransformierte einer geeignet gewichteten sin-Funktion .

Die Projektion einer Helix, deren Verlauf wir mit Gl. (10.2) beschrieben haben, auf ihre y, z -Ebene wird durch die sin-Linie

$$(10.15) \quad r' = (0, r \sin \varphi, \frac{c}{2\pi} \varphi)$$

wiedergegeben, wenn der $\sin$ die Gewichtsfunction

$$\frac{d|r'|}{d\varphi} = \frac{\sqrt{r^2 + (c/2\pi)^2}}{\sqrt{(r \cos \varphi)^2 + (c/2\pi)^2}} \sim \frac{1}{\sqrt{(r \cos \varphi)^2 + \frac{c^2}{4\pi^2}}}$$

erhält. Anschaulich ist diese Korrektur so deutbar, daß der Tangenteneinheitsvektor der Helix, projiziert auf die y, z -Ebene, nur dann unverkürzt erscheint, wenn er in ihr liegt. Bei der Fouriertransformation dieser gewichteten sin-Linie haben wir jedem Linienelement

$$d\mathbf{r}' = \sqrt{(r \cos \varphi)^2 + \left(\frac{c}{2\pi}\right)^2} d\varphi$$

ein Phasenglied zuzuordnen; $d\mathbf{r}'$ ist zwar wegen $\cos \varphi$ variabel, der variable Anteil $\sqrt{}$ kürzt sich aber gerade gegen $\sqrt{}$ in der Gewichtsfunction heraus.

Führen wir im Fourier-Raum den ebenfalls verkürzten Vektor

$$\mathbf{r}' = (0, R \sin \phi, z)$$

ein, erhalten wir mit den gleichen Argumenten wie im Fall der kontinuierlichen Helix für die Fouriertransformation der gewichteten sin-Linie

$$F(R, \phi, \frac{p}{c}) = \int \cdot \int_0^{2\pi} e^{2\pi i \cdot r R \sin \phi \sin \varphi + i \frac{p}{c} \varphi} d\varphi$$

mit dem Ergebnis

$$F(R, \phi, \frac{\ell}{c}) \sim \int_{\ell} (2\pi + R \sin \phi)$$

Dies stimmt in der Ewald-Ebene bei der von uns gewählten Orientierung mit (10.11) genau überein.

Außerhalb der Ewald-Ebene liegen nun keine Ringe vor, sondern Gräben: die Bessel-Funktionen behalten ihren Wert auf Linien senkrecht zur Ewald-Ebene

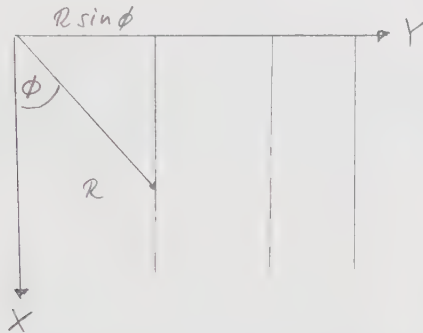


Abb. 45
Blick auf die
X,Y,-Ebene

wegen der X -Abhängigkeit $1(X)$ der Fouriertransformierten entsprechend der x -Abhängigkeit $\delta(x)$ der sin-Linie. Dieser Unterschied wird erst durch Drehen der sin-Linie sichtbar.

10.3. Die Mehrfach - Helix

Statt die Helix in (10.2) bei $\varphi = 0$ beginnen zu lassen, können wir sie uns auch um ein Stück versetzt denken, indem wir den z - oder den x, y -Anteil um die Strecke $\alpha \cdot c/2\pi$ bzw. um den Winkel α versetzen. Diese Translation äußert sich in einer Änderung des Phasengliedes in Gl. (10.11) von

$$e^{i\ell\phi} \quad \text{nach} \quad e^{i\ell(\phi+\alpha)}$$

Bei einer N -fach Helix betragen die Versetzungen gerade Vielfache von $2\pi/N$. Summieren wir wie beim Gitterfaktor über alle Phasenglieder, erhalten wir in der l -ten Ebene

$$\sum_n e^{i\ell 2\pi n/N} = \frac{e^{i\ell 2\pi} - 1}{e^{2\pi i\ell/N} - 1}$$

Stimmt der Index l der Ebene mit der Anzahl N der Helices überein, ergibt die Summation genau N , in allen anderen Fällen 0 . Für die Intensität einer N -fach-Helix bedeutet dies, daß jede N -te Schicht mit N^2 verstärkt wird und alle anderen Schichten gelöscht werden. Ob eine Doppelhelix oder eine Einfachhelix mit halber Ganghöhe vorliegt, kann nur mit den Nebenmaxima der Abb.45 entschieden werden.

10.4. Die Helix mit endlicher Fadendicke

Bisher haben wir die Helices als unendlich dünne Fäden angesehen. Eine endliche Fadendicke können wir in grober Näherung dadurch beschreiben, daß die unendlich dünne Helix der Gl. (10.1) mit einer dünnen Kreisscheibe gefaltet wird, die gegenüber dem rechtwinkligen Koordinatensystem ihre Orientierung nicht ändern soll.

Erreicht der Durchmesser der Scheibe annähernd den Durchmesser der Helix, entsteht ein Gewinde⁵⁰.

Der Faltung der Helix mit einer Scheibe entspricht im Fourier-Raum die Multiplikation von Gl. (10.11) mit

$$\frac{J_1(2\pi r' R)}{(2\pi r' R)}$$

mit r' als Scheibenradius (s. Anhang 1.b. oder c).

Die von der Z-Achse entfernten liegenden Reflexe werden durch diesen Faktor, der ähnlich oszilliert wie $\sin x/x$, zusätzlich geschwächt.

10.5. Die kontinuierliche Helix mit schwankender Elektronendichte

a) Eine beliebige Elektronendichte ist als Fourier-Reihe darstellbar. Wir beschränken uns darauf, daß die Periode der Elektronendichte mit der Ganghöhe übereinstimmt und untersuchen nur den Einfluß eines Fourierelementes, mit dem das Phasenglied zu multiplizieren ist.

Wir setzen
$$e^{im\varphi} + e^{-im\varphi} = 2 \cos m\varphi$$

in Gl. (10.10) ein:

$$f_c(R, \phi, \frac{\epsilon}{c}) = \int_0^{2\pi} e^{\pm im\varphi} \cdot e^{2\pi i r R \cos(\varphi - \phi) + i(\varphi - \phi)} d\varphi$$

Dies ist nach Anhang 6. die Definition der Bessel-Funktion der ganzzahligen Ordnung $l \pm n$. Analog zu (10.11) erhalten

wir

$$(10.16) \quad F_l(R, \phi, \frac{L}{c}) = e^{i(l \pm n)\phi} i^{l \pm n} \gamma_{l \pm n}(2\pi + R)$$

Jede Gewichtsfunktion $e^{in\phi}$ verschiebt das Helix-Kreuz, von dem Abb. 43 einen Quadranten zeigt, um n Ebenen. Wir erhalten mit der Schwankung $\cos n\phi$ das Bild



b) Verwickelter wird der Fall, wenn die Periode L der Elektronendichte und die Ganghöhe nicht übereinstimmen, also erst q Ganghöhen und p Perioden ein gemeinsames Vielfaches d bilden.

$$qc = pL = d$$

Das n -te Fourierelement schwingt in L n -mal und in d np -mal. In d ist die Helix-Funktion q -fach periodisch. Statt der Schichten in den Abständen $1/c$ entstehen nun diskrete Schichten mit den engeren Abständen $1/d$. In diesen neuen Schichten lautet die Fouriertransformation

$$(10.17) \quad F(R, \phi, \frac{m}{d}) = e^{i l (\phi + \frac{\pi}{2})} \cdot \sum_l \gamma_{-l}(2\pi + R)$$

wobei sich der Index l der Bessel-Funktion berechnet nach $m = -(lq + np)$ für alle ganzen Zahlen.

Da m , np und q vorgegeben sind, gibt es nur eine Zahl l , die diese Auswahlregel erfüllen kann.

10.6 Die diskrete Helix

Aus Gl. (10.16) lassen sich alle Fälle mit beliebigen Elektronendichteschwankungen ableiten, die die gleiche Periode haben wie die Helix. Wir wählen den Fall, in dem p Punkte auf eine Windung fallen und beschreiben sie mit



$$(10.18) \quad \sum_{k=1}^p \delta\left(\varphi - k \frac{2\pi}{p}\right) = \frac{p}{2\pi} \sum_{n=-\infty}^{+\infty} e^{i n p \varphi}$$

Die Summe ist der Gewichtungsfaktor des Phasengliedes (10.6). Statt (10.16) aus Abschnitt 10.5 erhalten wir nun

$$(10.19) \quad F(R, \phi, l/c) = p \sum_{n=-\infty}^{+\infty} e^{i(n p + l/c)(\phi + \pi/2)} \cdot \int_{l+np}^{\eta} (2\pi + R)$$

Diskussion der Gl. (10.19)

a) Jeder Summand in (10.18) verschiebt das Helix-Kreuz um np Ebenen, so daß sich die Beugungsfigur einer einzelnen Helix alle p Ebenen wiederholt,

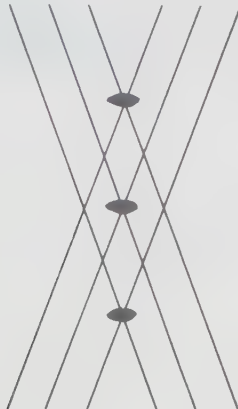


Abb. 46
Wiederholungen des
Helix-Kreuzes

Dies hat zur Folge, daß in jeder l -ten Ebene alle die Besselfunktionen gesammelt werden, deren Indizes sich von l um Vielfache von p unterscheiden.

Hat die Helix in z -Richtung nur eine Ausdehnung L , wird die Fouriertransformation (10.19) mit $\sin \pi L z / z$ gefaltet. Bei kleinem L vermischen ihre Oszillationen alle Ebenen. Für die Laserbeugung wählen wir 12 Punkte auf einer Windung. Ihre Projektion ergibt 12 Punkte auf einer Sinus-welle. Der Durchmesser des Laserstrahls erfaßt etwa zwei bis drei Windungen.

Die Aufweitung der verschiedenen Ebenen und ihre Überlagerung untereinander ist schon so stark, daß die typischen Merkmale des idealen, unendlich ausgedehnten Falles kaum noch zu erkennen sind.

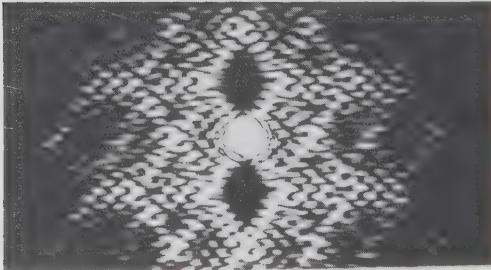


Abb. 47 Beugungsdiagramm einer endlichen Helix mit wenig Windungen

b) Längs der Z-Achse im Fourier-Raum wiederholt sich im Abstände p/c die nullte Ordnung der nullten Besselfunktion. In den anderen Ebenen zwischen ihnen findet sich keine Intensität. Die Z-Achse schneidet eine Punkt-Folge im Abstände p/c aus dem Fourier-Raum heraus. Ihr entspricht im Ortsraum eine Projektion auf die Z-Achse, woraus eine Punktfolge im Abstände c/p wird.

c) Für die nullte Ebene im Fourier-Raum lautet (10.19)

$$(10.20) \quad F_0(r, \phi) = p \cdot J_0(2\pi r R) + 2p \sum_{n=1}^{\infty} i^{np} \cdot J_{np}(2\pi r R) \cdot \cos(np\phi)$$

Dies entspricht im Ortsraum der Projektion der Helix auf die x,y-Ebene, also p Punkten auf einem Kreis.

An einer solchen Figur läßt sich Laserbeugung einfach durchführen, siehe Abb. 48, p ist diesmal 16.

Wir erkennen im Vergleich mit (10.20), wenn wir uns die Bildung des Betragsquadrates ausgeführt denken:

Innen bilden die Nebenmaxima von J_0^2 Kreise.

Daran schließt sich die 16. Besselfunktion an, die 32 mal vom cos-Term unterteilt wird.

Dieses Spiel geht nach außen hin weiter:

Die np -ten Besselfunktionen werden mit ihrem Haupt- und Nebenordnungen 2 np -mal unterteilt.

Der innen liegenden Funktion J_0 , die die Fouriertransformierte eines Kreises ist (Anhang 1.a), entspricht die niedrigste Information des Beugungsobjektes. Jeder Ausdruck

$$J_{np} \cdot \cos(np\phi)$$

repräsentiert eine Oszillation mit np auf einem Kreis.

d)

1. Geht $r \rightarrow 0$, bleiben in jeder p -ten Ebene nur die J_0 an der Stelle 0 übrig, multipliziert mit einem Phasenfaktor vom Betrage 1.

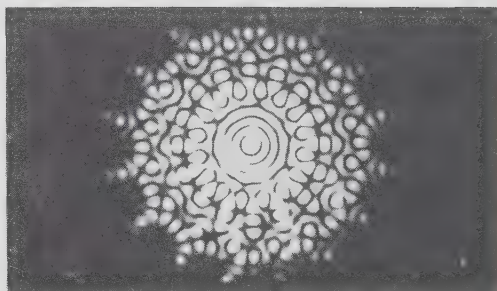
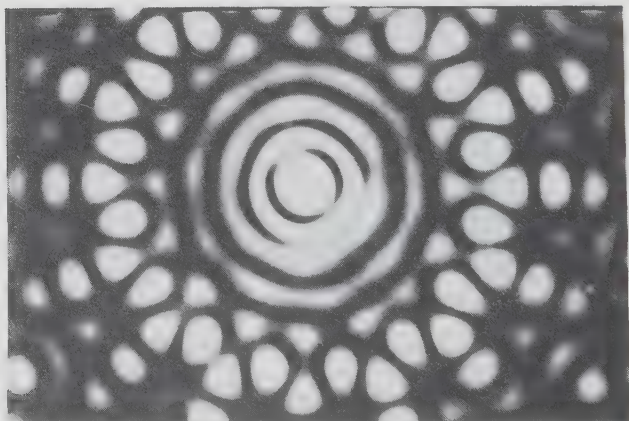


Abb. 48 Beugungsdiagramm von 16
Punkten auf einem Kreis



Dieser Fall entspricht einer Beugung an einer Punktreihe im Abstände c/p .

2. Für $p = 1$ geht die Summe (10.19) in jeder Ebene über in

$$\sim \sum_{n=-\infty}^{+\infty} e^{in(\phi + \pi/2)} \cdot \int_n (2\pi + 2R) \\ = e^{2\pi i + 2R \cos \phi}$$

(s. Anhang 6.1), wieder vom Betrage 1.

Wir erhalten wieder die Beugung an einer Punktreihe mit Abständen c .

3. Für $p \rightarrow \infty$ wird die Wiederholung des Helix-Kreuzes ins Unendliche verschoben, sodaß nur ein Helix-Kreuz übrigbleibt gemäß der Beugung an einer kontinuierlichen Helix.

Zusammenfassung

Die Sehstäbchenaußensegmente erfüllen zwei Voraussetzungen für eine Röntgenstrukturanalyse. Sie enthalten einen Stapel aus Vesikeln und damit eine periodische Wiederholung der interessierenden Membranstruktur. Die geschlossene Form der Vesikel mit zwei gleichen Membranhälften bedeutet, daß ihre Projektion auf die Stapelachse eine symmetrische Elementarzelle ergibt.

Die erste Eigenschaft geht in das Beugungsdiagramm als Gitterfaktor ein. Er verstärkt den Strukturfaktor der Vesikel in äquidistanten Abständen und hebt damit an diesen ausgezeichneten Stellen das Streudiagramm der einzelnen Vesikel vor dem Untergrund der diffus streuenden, ungeordneten Umgebung ab.

Die zweite Eigenschaft hat zur Folge, daß die Anzahl der Phasenmöglichkeiten für die Strukturamplitude auf die beiden diskreten Werte $+1$ und -1 beschränkt bleibt. Mit Hilfe des sample-Theorems betonen wir, daß in diesem besonderen Fall die Phasen auch im Verlauf der Intensitätsfunktion der Gitterzelle steckt. Gleichzeitig machen wir deutlich, wie eine hohe Ordnung und eine genaue Bestimmung der Phasen sich gegenseitig ausschließen. Für einen Kompromiß werden weniger geordnete Strukturen **verwendet**, die längere Belichtungszeiten erfordern. Wir haben für Stäbchen in Suspension eine Präparationsmethode ausgearbeitet, welche über eine Zeit bis zu vier Tagen einen stabilen Probenzustand gewährleistet. Erst diese Stabilität macht die erforderliche Belichtungszeit möglich.

Wir finden drei Reflexsysteme, die wir auf Grund ihrer unterschiedlichen Orientierungen separieren können.

Die eine Gruppe, die sich der Stapelperiode zuordnen läßt, wird zur Berechnung eines Elektronendichteprofiles der Vesikelmembran herangezogen. Dabei verwenden wir die sogenannte Q-Funktionsmethode, die für kleine Stapel besonders sichere Ergebnisse liefert, in einer erweiterten Form, welche Abstandsschwankungen zwischen den Einzelmembranen und den Vesikeln berücksichtigt. Nach dieser Methode berechnet sich eine asymmetrische Elektronendichteverteilung für die Einzelmembran.

Sie steht mit auf Lipiddoppelschichten zurückgeführten Modellen mit nur einem Protein nicht in Einklang. Diese Membranmodelle basieren auf dem biochemischen Befund, daß Rhodopsin als einzig großes Proteinmolekül nahezu den gesamten Proteingehalt der Membran ausmacht. Neuere Analysen der Proteinzusammensetzung konnten drei vom Molekulargewicht ähnliche, ansonsten jedoch deutlich verschiedene Proteinbestandteile der disc-Membran nachweisen, von denen nur eines Rhodopsin ist. Diese drei Proteine begünstigen aber ein asymmetrisches Membranmodell.

Die noch verbleibenden Reflexe sehen wir als einen Hinweis für eine Flächenstruktur, nachdem naheliegende Artefakte als Erklärung ausgeschlossen werden konnten. Wir interpretieren die Flächenstruktur als eine im natürlichen Zustand bereits vorgeprägte, auf Grund der Fluidität jedoch latente Ordnung, welche im untersuchten Probenzustand eingerastet ist. Als Versuch einer molekularen Deutung werden Grundmodelle für helicale Strukturelemente herangezogen und erweitert. Die beste Übereinstimmung zwischen Experiment und Theorie liefert eine Helix oder sin-Verteilung mit endlicher Strangdicke. Eine eindeutige Zuordnung kann aber nicht hergestellt werden.

Mathematischer Anhang

1. Fouriertransformation in Zylinderkoordinaten^{50,55}

$$F(\gamma) = F(X, Y, Z) = \int g(r) = \int g(x, y, z) \\ = \iiint_{-\infty}^{+\infty} e^{2\pi i (xX + yY + zZ)} g(x, y, z) dx dy dz$$

$$\begin{aligned} x &= r \cos \varphi & X &= R \cos \phi \\ y &= r \sin \varphi & Y &= R \sin \phi \\ z &= z & Z &= z \end{aligned}$$

$$dx dy dz \rightarrow r dr d\varphi dz$$

$$F(R, \phi, z) = \int_0^\infty \int_0^{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} g(r, \varphi, z) \cdot e^{2\pi i [rR \cos(\varphi - \phi) + zZ]} \\ \cdot r dr d\varphi dz$$

1.a Fouriertransformation eines Kreises

$$g(r, \varphi, z) = \odot = \delta(r - r_0) \cdot \delta(z)$$

$$F(R, \phi, z) = \int \dots = r_0 \int_0^{2\pi} e^{2\pi i r_0 R \cos(\varphi - \phi)} d\varphi \cdot 1(z)$$

$$= 2\pi r_0 \cdot \int_0^{2\pi} (2\pi r_0 R) \cdot 1(z) \cdot$$

(s. Anhang 6.)

1.b Fouriertransformation einer Kreisscheibe

$$g(r, \varphi, z) = \text{⊗} = \begin{cases} 1 & r \leq r_0 \\ 0 & r > r_0 \end{cases} \cdot \delta(z)$$

$$F(R, \phi, Z) = \tilde{f} \text{⊗} =$$

$$= \int_0^{r_0} \int_0^{2\pi} e^{2\pi i r R \cos(\varphi - \phi)} d\varphi \cdot r dr \cdot 1(Z)$$

$$= \int_0^{r_0} 2\pi \int_0^1 (2\pi r R) \cdot r dr \cdot 1(Z)$$

$$= 2\pi r_0^2 \frac{J_1(2\pi r_0 R)}{2\pi r_0 R} \cdot 1(Z)$$

(s. Anhang 6.)

1.c Fouriertransformation eines Zylinders

$$g(r, \varphi, z) = \text{⊞} = \begin{cases} 1 & r \leq r_0 \\ 0 & r > r_0 \end{cases} \cdot \begin{cases} 1 & |z| \leq z_0/2 \\ 0 & |z| > z_0/2 \end{cases}$$

$$F(R, \phi, Z) = \tilde{f} \text{⊞} =$$

$$= \tilde{f} \text{⊗} \cdot \int_{-z_0/2}^{+z_0/2} e^{-2\pi i z Z} dz$$

$$= 2\pi r_0^2 \frac{J_1(2\pi r_0 R)}{2\pi r_0 R} \cdot z_0 \frac{\sin \pi z_0 Z}{\pi z_0 Z}$$

2. Darstellungen der δ -Funktion⁵⁶

$$a) \quad \delta(x-x') = \int_{-\infty}^{+\infty} e^{2\pi i y (x-x')} dy$$

Fourier-Reihe von δ -Funktionen im Abstände c :

$$\delta(x-kc) = \frac{1}{c} \sum_n e^{2\pi i x n/c}, \quad k = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$$

$$b) \quad \delta(x) = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{\pi} \frac{\sin nx}{x}$$

$$c) \quad \delta(x) = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{n}{\pi} \left(\frac{\sin nx}{nx} \right)^2$$

d) Ist das Argument der δ -Funktion selbst eine Funktion $f(x)$, gilt

$$\delta(f(x)) = \sum_i \frac{\delta(x-x_i)}{|f'(x_i)|}, \quad x_i \text{ einfache Nullstelle von } f(x).$$

1. Faltung und Fouriertransformation

Faltung der Funktionen $f(x)$ und $g(x)$:

$$h(y) = \overbrace{f(x) g(x)} = \int_{-\infty}^{+\infty} f(x) g(y-x) dx$$

Fouriertransformation von $h(y)$:

$$\begin{aligned} H(Y) &= \mathcal{F} h(y) = \int_{-\infty}^{+\infty} e^{-2\pi i y Y} h(y) dy \\ &= \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} e^{-2\pi i (x+x') Y} f(x) \cdot g(x') dx dx' \\ &= \left(\mathcal{F} f(x) \right) \cdot \left(\mathcal{F} g(x') \right) \end{aligned}$$

Verschiebungssatz der Fouriertransformation:

$$\begin{aligned} \mathcal{F} f(x+a) &= \int_{-\infty}^{+\infty} e^{-2\pi i x X} f(x+a) dx \\ &= \int_{-\infty}^{+\infty} e^{-2\pi i (x'-a) X} f(x') dx' \\ &= e^{2\pi i a X} \mathcal{F} f(x') \end{aligned}$$

4. Porod'scher Blättchenfaktor

$$S = \text{[Diagram of a rectangular plate]} = \text{[Diagram of a line segment]}_{x_0} \cdot \text{[Diagram of a line segment]}_{y_0} \cdot \text{[Diagram of a line segment]}_{z_0/2}$$

$$\lim_{x_0, y_0 \rightarrow \infty} |f_S|^2 = \delta(X) \cdot \delta(Y) \cdot \left(\frac{\sin \pi z_0 \tilde{z}}{\pi z_0 \tilde{z}} \right)^2$$

Eingesetzt in Gl. (7.3):

$$I(\tilde{z}) = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} \delta(\tilde{z} \sin \theta \cos \phi) \delta(\tilde{z} \sin \theta \sin \phi) \cdot \left(\frac{\sin \pi z_0 \tilde{z} \cos \theta}{\pi z_0 \tilde{z} \cos \theta} \right)^2 \sin \theta d\theta d\phi$$

Sukzessives Anwenden von Anhang 2.d:

$$\begin{aligned} I(\tilde{z}) &= \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} \frac{\delta(\phi - \pi/2)}{\tilde{z} \sin \theta} \delta(\tilde{z} \sin \theta \sin \phi) \cdot \left(\frac{\sin \pi z_0 \tilde{z} \cos \theta}{\pi z_0 \tilde{z} \cos \theta} \right)^2 \sin \theta d\theta d\phi \\ &= \frac{1}{\tilde{z}} \int_0^{\pi/2} \delta(\tilde{z} \sin \theta) \left(\frac{\sin \pi z_0 \tilde{z} \cos \theta}{\pi z_0 \tilde{z} \cos \theta} \right)^2 d\theta \\ &= \frac{1}{\tilde{z}} \int_0^{\pi/2} \frac{\delta(\theta - 0)}{\tilde{z}} \left(\frac{\sin \pi z_0 \tilde{z} \cos \theta}{\pi z_0 \tilde{z} \cos \theta} \right)^2 d\theta \\ &= \frac{1}{\tilde{z}^2} \left(\frac{\sin \pi z_0 \tilde{z}}{\pi z_0 \tilde{z}} \right)^2 \end{aligned}$$

5. Q_0 - Funktion nach Pape⁴¹

$$Q_0(x) = \alpha_0^2 (2\pi - x) + \sum_{k=1}^N \frac{1}{2} \alpha_k^2 \left[(2\pi - x) \cos kx - \frac{\sin kx}{k} \right] \\ + \sum_{k=1}^N 2k \alpha_k \sin kx \sum_{\substack{\ell=0 \\ k \neq \ell}}^N \frac{(-1)^{k+\ell} \alpha_\ell}{\ell^2 - k^2}$$

6. Eigenschaften der Besselfunktionen J_n ⁵⁷

Integraldarstellung:

$$2\pi i^n J_n(u) = \int_0^{2\pi} e^{iu \cos \varphi + in\varphi} d\varphi$$

Reihenentwicklung:

$$e^{iu \sin \varphi} = \sum_n^{\pm \infty} e^{in\varphi} J_n(u)$$

Rekursionsformel:

$$\int_a^b J_n(u) u^{n+1} du = \left[u^{n+1} J_{n+1}(u) \right]_a^b$$

Literatur

- 1 W.J. Schmidt (1938) Kolloid-Z. 85, 137
- 2 H. Fernández-Morán (1962) Cell-Membrane Ultrastructure
Circulation 26, 1039
- 3 S.E.G. Nilsson (1965) J. Ultrastructure Res. 12, 207
- 4 J. Rosenkranz (1969) Dissertation T.H. Aachen
- 5 J.D. Robertson (1966) Ann.N.Y. Acad. Sci, V. 137, 421
- 6 A.E. Blaurock, M.H.F. Wilkins (1969) Nature 223, 906
- 7 J.K. Blasie, C.R. Worthington, M.M. Dewey (1969)
J. Mol. Biol. 39, 407
- 8 J.M. Corless (1972) Nature 237, 229
- 9 C.R. Worthington (1973) Exp. Eye Res. 17,487
- 10 M. Chabre (1975) BBA 382, 322
- 11 R.Hosemann, S.N. Baghi (1962) Direct Analysis of Diffraction
by Matter (North-Holland Publishing Comp. Amst.)
- 12 W. Welte (1975) Diplomarbeit U Freiburg, Inst. f.
Bioph. u. Strahlenbiol.
- 13 G.Wald (1968) Nature 219, 800
- 14 W.A. Hagins, R.D. Penn, S. Joshikami (1970)
Biophys. J. 10, 380
- 15 T.O.Ebrey, B. Honig (1973) Quart. Rev. Bioph. 8, 129
- 16 J.E. Dowling, F.W. Werblin (1969) J. Neurophysiol. 32,315
- 17 W. Young, D. Bok (1969) J. Cell Biol. 42, 392
W. Young (1970) Scientific American 223, Oct., 81
- 18 F.J.M. Daemen (1973) BBA 300, 255
- 19 F. Siebert, H. Schmid, R.H. Mull (1977) BBRC 75, 1071
- 20 C.W. Wu, L.Stryer (1972) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 69, 1104
- 21 E.W. Abrahamson (1975) Acc. of Chem. Res. 8, 101
- 22 J.K. Blasie, M.M. Dewey, A.E. Blaurock, C.R. Worthington
(1965) J. Mol. Biol. 14,143
- 23 D. Oesterhelt, W. Stoeckenius (1971) Nature New Biology
233, 149
- 24 R. Henderson (1975) J. Mol. Biol. 93, 123
- 25 P.R. Brown (1972) Nature New Biol. 236, 35
- 26 R.A. Cone (1972) Nature New Biol. 236, 39

- 27 F. Siebert (1975) Kopenhagen-Symposium, P-345
- 28 D.F. O'Brien, L.F. Costa, R.A. Ott (1977) Biochem. 16, 1295
- 29 S. Futtermann, J.C. Downer, A. Hendrickson (1971)
Invest. Ophthalmol. 10, 151
- 30 R.A. Dilley, D.G. McConnel (1970) J. Membrane Biol. 2, 317
- 31 M.v. Laue (1960) Röntgenstrahlinterferenzen
(Akad. Verl. Ges.)
- 32 R. Bracewell (1965) The Fouriertransform and Its
Applications (McGraw-Hill, Inc.)
- 33 D.G. McConnel (1965) J. Cell Biol. 27, 459
- 34 Sickel (Köln) pers. Mitteilung 1974 u. 1977
- 35 O. Kratky (1954) Z. Elektrochem. 58, 49
- 36 M. Chabre, A. Cavaggioni (1973) Nature New Biol. 244, 118
- 37 M. Henne (1976) Diplomarbeit U. Freiburg,
Inst. f. Biophys. u. Strahlenbiol.
- 38 H.K. Kiessig (1942) Kolloid-Z. 98, 213
- 39 G. Porod (1948) Acta Physic. Austriac. 2, 255
- 40 W. Kreutz (1968) Habilitationsschrift D 83 TU Berlin
W. Kreutz (1970) Adv. Bot. Res. 3, 53
- 41 E.H. Pape (1974) Biophys. J. 14, 284
- 42 H.D. Deas (1952) Acta Cryst. 5, 542
- 43 P. Debye (1915) Annalen d. Physik 46, 809
- 44 N. Hodapp (1975) Diplomarbeit U. Freiburg,
Inst. f. Biophys. u. Strahlenbiol.
- 45 L. Jaenecke (1975) Diplomarbeit U. Freiburg,
Inst. f. Biophys. u. Strahlenbiol.
- 46 H.P. Stüwe, G. Vibrans (1974) Feinstrukturuntersuchungen
in der Werkstoffkunde (WV)
- 47 D.W. Marquardt (1963) J. Soc. Ind. Appl. Math. 2, 431
- 48 K.J. Klott (1975) Dissertation U. Freiburg,
Inst. f. Biophys. u. Strahlenbiol.
- 49 W. Müller (1976) Dissertation U. Freiburg
- 50 B.K. Vainshtein (1966) Diffraction of X-Rays by Chain
Molecules (Elsevier Publ. Comp.)
- 51 J.M. Corless, W.H. Cobbs, M.J. Costello, J.D. Robertson
(1976) Exp. Eye Res. 23, 295

- 52 K. Hong, W.L. Hubbel (1972) Proc. Nat. Acad. Sci. 69,2617
- 53 R. Uhl (1976) Dissertation U. Freiburg
- 54 K.P. Hofmann (unveröffentlichte Befunde)
- 55 W. Cochran, F.H.C. Crick, V. Vand (1952) Acta Cryst. 5,581
- 56 S. Großmann (1974) Mathematischer Einführungskurs
für die Physik (Teubner)
- 57 H. Margenau, G.M. Murphy (1965) Die Mathematik für die
Physik und Chemie I (Deutsch)

Herrn Prof. Kreutz danke ich für die Vergabe der Arbeit
und phantasiebewegende Diskussionen,

Frau Heppeler für das Anfertigen der Fotografien,

Frau صبية الديب (El Deeb) für die Hilfe beim Zeichnen,

den Herren Dietmar Walter und Jürgen Fritz für die Umwandlung
der anfälligen Drehanode in ein zuverlässiges Meßinstrument,

den Herren im Schlachthof für die Versorgung mit frischen
Rinderaugen,

der Photolysegruppe im Hause für regelmäßige Diskussionen,

den Herren Norbert Hodapp und Wolfram Welte für ständige
Diskussionen und wertvolle Hilfe.

Mein herzlicher Dank gilt Frau Věruška Müllerová für
langjährige Zusammenarbeit

sowie Herrn Ossi Müller für die spontane Hilfe beim
Tippen der Reinschrift.

Lebenslauf

Name	Siegfried Stange
Geburtsdatum	19. 1. 1941
Geburtsort	Elbing, Westpreußen
Eltern	Martin Stange, Lehrer Elli Stange
Schulbildung	1948 - 1951 Volksschule in Nordhastedt bzw. Kronprinzenkoog (Holstein) 1951 -1960 Gymnasium in Marne (Holstein) März 1960 Abitur
Bundeswehr	1960 - 1962 24 Monate Wehrdienst
Hochschule	1962 - 1969 sieben Jahre Studium der Physik an der TU in Berlin, Diplomarbeit am Institut für Kern- physik bei Prof. Dr. Bucka. November 1969 Diplom 1970 - 1971 Tutor am Institut für Physikalische Chemie der TU Berlin und Beginn der Promotion bei Prof. Dr. Kreutz. November 1971-Juni 1977 Wissenschaftlicher Assistent am Institut für Biophysik und Strahlen- biologie in Freiburg und Fortsetzung der Promotion bei Prof. Dr. Kreutz.

